

CARLOS EDUARDO PULZ ARAUJO

EFEITO DE UM ANTIFÚNGICO DERIVADO IMIDAZÓLICO -
CETOCONAZOL, SOBRE O PERFIL ENZIMÁTICO DA ASPAR-
TATO-AMINOTRANSFERASE E ALANINA-AMINOTRANSFERASE
NO SORO DE RATOS PARCIALMENTE HEPATECTOMIZADOS.

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba da Uni-
versidade Estadual de Campinas,
para obtenção do Título de Mestre
em Ciências, Área de Farmacologia.

Ar15e

18957/BC

Piracicaba - SP

- 1992 -

CARLOS EDUARDO PULZ [ARAUJO nº 15

*Este exemplar
foi devidamente
registrado conforme
COPGA/036/83.*

Piracicaba, 12 de fevereiro de 1993

Thales R. M. Filho

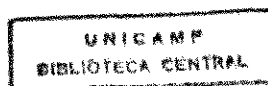
EFEITO DE UM ANTIFÚNGICO DERIVADO IMIDAZÓLICO -
CETOCONAZOL, SOBRE O PERFIL ENZIMÁTICO DA ASPAR-
TATO-AMINOTRANSFERASE E ALANINA-AMINOTRANSFERASE
NO SORO DE RATOS PARCIALMENTE HEPATECTOMIZADOS.

Orientador : Prof. Dr. THALES ROCHA DE [MATTOS FILHO t

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba da Uni-
versidade Estadual de Campinas,
para obtenção do Título de Mestre
em Ciências, Área de Farmacologia.

Piracicaba - SP

- 1992 -



" O louvor, e a glória, e a sabedoria, e as ações de graça, e a honra, e o poder, e a força, sejam ao nosso Deus pelos séculos dos séculos ". Amém.

Apocalipse 7:12

" Disse mais o Senhor Deus: não é bom que o homem esteja só: far-lhe-ei uma auxiliadora que lhe seja idônea".

Gênesis 2:18

Para a LUCIANE, ofereço este fruto do meu trabalho como prova, também, do meu amor.

Aos meus Pais, ADESSES e MOEMA, que sempre me acompanharam e encorajaram, com muito amor, incentivo e compreensão, incontestáveis exemplos de dedicação e bons princípios;

Aos meus sogros (ONDINA e FRANCISCO) pelo incentivo que sempre souberam me dar ;

... dedico este trabalho.

Ao Prof. Dr. THALES ROCHA DE MATTOS FILHO

pela orientação, lealdade, amizade e compreensão nos
descaminhos percorridos até a execução deste trabalho,

meu reconhecimento e gratidão.

À Profa. Dra. ESTERA FINKELFARB,
por cujos exemplos, ingressei na carreira do magistério,
o meu carinho e reconhecimento.

Ao Prof. Dr. JOSÉ RANALI e Prof. Dr. EDUARDO DIAS ANDRADE,
pela amizade, incentivo e estímulo à minha carreira
universitária, minha gratidão.

AGRADECIMENTOS

À FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA (FOP-UNICAMP) através de seu digníssimo diretor, Prof. Dr. Renato Roberto Biral pela oportunidade e constante colaboração durante o meu convívio na pós-graduação;

Aos DOCENTES DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA, pela inestimável contribuição a minha formação científica;

Ao Prof. RONALDO SEICHI WADA pela orientação no estudo estatístico deste trabalho;

À FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS da USF, na pessoa do Diretor Prof. SÉRGIO L. MARTIN NARDY e ao DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA, na pessoa do Prof. ENZO MAGRINI pelo apoio irrestrito a realização desta pesquisa;

Ao Farmacêutico-Bioquímico Dr. ADÃO PAULINO RIBEIRO, pela incalculável colaboração durante a realização deste experimento;

Às secretárias ANA MARIA, MARIA ELISA DOS SANTOS e VILMA BIZUTI pelos trabalhos de datilografia e a atenção carinhosa dispensada em todos os momentos;

Ao técnico José Carlos pela atenção dispensada quando da minha presença no laboratório;

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação, pelo estímulo e colaboração durante a realização deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico, cujo auxílio permitiu a realização do Curso de Pós-Graduação.

A todos aqueles que, embora não citados nominalmente, contribuíram para a concretização deste trabalho.

C O N T E Ú D O

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	07
3. PROPOSIÇÃO.....	34
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
4.1. Animais utilizados.....	35
4.2. Preparo experimental dos animais.....	35
4.3. Técnica da hepatectomia parcial.....	36
4.4. Técnica da falsa cirurgia.....	36
4.5. Distribuição dos grupos experimentais...	37
4.6. Colheita de sangue.....	39
4.7. Preparo das amostras de sangue.....	40
4.8. Determinação da atividade das aminotransfe- rases no soro.....	41
4.9. Características do sistema.....	43
4.10. Sistematização dos métodos de identi- ficação das amostras.....	44
4.11. Análise estatística.....	45

5. RESULTADOS.....	46
6. DISCUSSÃO.....	88
7. CONCLUSÕES.....	99
8. RESUMO.....	100
9. SUMMARY.....	101
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	102
11. APÊNDICE.....	111

1 - INTRODUÇÃO

1 - INTRODUÇÃO

As últimas décadas assistiram a um surto de progresso na indústria química jamais experimentado antes na sua longa história. Os resultados se fizeram sentir onde quer que existisse vida sobre a terra. De todos os seus ramos, porém, a indústria farmacêutica foi um dos que mais contribuíram para a obtenção de tais resultados.

Os avanços conseguidos na síntese de novos compostos químicos trouxeram para a humanidade a cura de muitas doenças e alívio de um sem-número de manifestações indesejáveis. Mudaram o panorama global da prática Odontológica, Médica, Veterinária entre outras e das atividades sanitárias, dando novas dimensões ao conceito de saúde individual e coletiva, contribuindo para reduzir substancialmente os índices de mortalidade infantil e estendendo a média da vida humana, protegendo ainda, os indivíduos idosos contra males que os afligiam, tornando mais longos, mais úteis e agradáveis os anos de velhice.

No domínio das doenças infecciosas, cujo tratamento era pouco mais que sintomático, pode-se encontrar os melhores exemplos com o advento da descoberta da penicilina em 1929 por FLEMING, e da quimioterapia sulfamídica em 1935 por DOMAGK ambos prêmio Nobel de Medicina, a partir de quando começaram a surgir, por síntese orgânica ou biossíntese, numerosas drogas ou fármacos com atividade antimicrobiana. A tuberculose, que consumia anos de tratamento climático e dietético, com percentagem elevada de mortes, tem hoje, na quimioterapia tuberculostática, esquema terapêutico eficiente, rápido e pouco dispendioso. A Pneumonia pneumocócica, Endocardite bacteriana subaguda, Meningite por *H. influenzae*, Meningite pneumocócica, Meningite meningocócica que até a era pré-antibiótica apresenta-

vam índices de letalidade elevados, com o advento dos antibióticos, tais níveis de letalidade declinaram acentuadamente, marcando o domínio do homem sobre os microrganismos (WEINSTEIN & BARZA, 1977).

Observou-se fenômeno idêntico no domínio das doenças por fungos, protozoários e helmintos. Ultimamente o homem tem travando com os vírus uma luta arduosa na tentativa de reverter o quadro atualmente existente com o advento da AIDS. Desafio maior tem sido imposto à química farmacêutica, que com a constante descoberta de novas drogas, permanece sempre submetida à antiga afirmação de Lucrecio: "*nec manet vela sui similis res, umbria migrant, omnia commutat natura et verberare cogit...*", ou seja, "coisa alguma permanece imutável, tudo se transforma, e a natureza impele todas as coisas à mudança..."

O parasitismo realizado por microrganismos se configura como um processo biológico fundamental, consequência lógica da batalha dos organismos vivos pela sua existência, objetivando, em última instância, a sua reprodução e conseqüente manutenção da espécie. Dentro deste contexto, a doença infecciosa poderia ser caracterizada como um enfraquecimento das funções sofridas por um organismo, decorrente das atividades de outro organismo que viveria no seu interior ou superfície. No quadro biológico geral, a doença infecciosa apareceria como um raro produto do parasitismo de uma forma de vida menos evoluída, sobre outra mais evoluída (BURNETT, 1976).

Uma característica de aspecto relevante relacionado ao parasitismo, é que a cooperação entre os microrganismos e seres situados nas mais altas posições da escala zoológica sempre é regra: a doença é exceção. O ser humano pode estabelecer várias relações com os microrganismos, sendo a simbiose exemplo de interação onde tanto o microrganismo como o hospedeiro se beneficiariam. Já os comensais participariam da alimentação do hospedeiro e assim como os saprófitas, organismos que vivem do excreta humano não lhe causariam

prejuízo. Os verdadeiros parasitas seriam aqueles que interfeririam na integridade e na função do hospedeiro, estando este grau de interferência relacionado com sua virulência ou patogenicidade atrelado a mecanismos adaptativos do hospedeiro.

O fungo *Cândida albicans* possui grande relevância devido às interações de comensalismo e saprofitismo que estabelece com o organismo humano, podendo ser encontrado na cavidade oral, no trato gastrointestinal e vagina de indivíduos normais. Apenas em hospedeiros predispostos ele seria capaz de provocar infecções oportunistas.

Diversas infecções por fungos patogênicos podem ser observadas nas membranas mucosas da cavidade oral, destacando-se em especial a Monilíase, Blastomicose Sul-americana e Histoplasmose.

Quadros infecciosos bucais muitas vezes obrigam o clínico, a realizar entre inúmeros procedimentos o tratamento farmacológico adequado para o combate de tais estados mórbidos. Dentre as infecções fúngicas de interesse odontológico, a Candidíase oral se configura como sendo uma dentre as quais o clínico deverá estar atento no que tange ao diagnóstico assim como ao tratamento.

Nesse contexto, porém, deve ser inserido outro elemento que determinará uma adequada apreciação no que denominou-se de "progresso da indústria farmacêutica".

A rápida síntese de novos produtos com o objetivo de combater microorganismos patogênicos, aliada à indiscutível importância da terapêutica antimicrobiana moderna, trouxeram à tona também uma série de difíceis questões ainda não bem claras, que partem desde as atividades farmacodinâmicas destes novos compostos até sua natureza farmacocinética, destacando-se sua biotransformação, em particular nas células hepáticas, e os efeitos pouco conhecidos dos

metabólitos resultantes sobre a morfologia e a funcionalidade do fígado do hospedeiro.

Paradoxalmente, o presente contrasta com o passado : se a Odontologia e a Medicina de antigamente eram anatemizadas pela penúria de recursos terapêuticos, hoje são criticadas pela abundância, com uma polifarmácia que necessita ser criteriosamente discriminada pelo profissional dentista, tudo em função e benefício do paciente.

O fígado, classicamente, tem recebido a denominação de "zelador do meio interno". Os distúrbios hepáticos induzidos por fenômenos químicos, biológicos ou físicos, tem comportado consequências de longo alcance sobre a hemostasia do organismo.

Vulnerável a uma ampla variedade de agressões metabólicas, circulatórias, tóxicas, microbianas e neoplásicas, o fígado é um dos órgãos do nosso organismo que mais frequentemente é lesado.

Lesões hepáticas no homem estão se tornando cada vez mais comuns, devido a automedicação e a prescrição inadequada por profissionais que muitas vezes se vêem "perdidos" em meio a enxurrada de novos medicamentos que são constantemente lançados no mercado.

A lesão hepática farmacogênica representa uma percentagem significativa entre todos os efeitos adversos aos medicamentos (FAICH *et alii*, 1987).

Os medicamentos têm sido responsabilizados por 2 a 5% das internações hospitalares por icterícia nos Estados Unidos (KOFF *et alii*, 1970 e MILLER, 1974), e respondem por aproximadamente 10% dos casos de hospitalização por "hepatite aguda" fora desse país (BENHAMOU, 1986).

A importância relativa da doença hepática farmacogênica assume significado ainda maior entre certos grupos de pacientes, como por exemplo, na população geriátrica, onde tem sido relatado uma incidência de 20% de icterícia medicamentosa nesta faixa etária (EASTWOOD, 1971).

Em relato recente, na França, **BENHAMOU** (1986) observou que 43% das internações por "hepatite aguda" decorrente do uso de medicamentos ocorreu em pacientes com mais de 50 anos.

SAMESHIMA (1974) no Japão, relatou que nos anos de 1964 a 1973, os casos descritos de lesão hepática foram 10 vezes mais frequentes que na década anterior.

Para **LEWIS & ZIMMERMAN** (1989) a grande maioria das doenças hepáticas de cunho medicamentoso, ocorre como reações inesperadas a uma dose terapêutica do medicamento e, com menor frequência, como consequência previsível da toxicidade intrínseca de certos agentes ingeridos em doses suficientemente grandes para produzir lesão hepática.

Diante de tal quadro, o estudo das alterações hepáticas induzidas por drogas a nível experimental constitui-se num importante instrumento para todos aqueles que se propõem a realizar uma correta interpretação dos efeitos adversos que por ventura um agente terapêutico ainda pouco conhecido possa apresentar, determinando a intensidade e a extensão das modificações impostas pela mesma sobre a homeostase orgânica.

Dentre os inúmeros procedimentos científicos existentes é no estudo experimental da regeneração hepática, após hepatectomia parcial em ratos, técnica esta concretizada pelo trabalho de **HIGGINS & ANDERSON** (1931) que se observa uma contribuição notável para o desenvolvimento de pesquisas que visam esclarecer várias

questões sobre a ação de drogas a nível de tecido hepático em regeneração, permitindo em muitos parâmetros determinar seus efeitos sobre sua capacidade regenerativa assim como sobre aspectos funcionais e morfológicos, oriundos da interação droga/fígado durante este processo.

Em todo o mundo a hepatotoxicidade dos agentes terapêuticos em uso atualmente tornou-se fenômeno de conhecimento generalizado, sendo óbvio que o número de compostos com algum potencial em alterar morfológica e funcionalmente a atividade hepática tem crescido à medida que se eleva a proporção do surgimento de novas e potentes drogas liberadas para o emprego terapêutico.

O Cetoconazol foi o primeiro antifúngico derivado imidazólico sintético introduzido na clínica com boa absorção quando administrado por via oral, fornecendo concentrações sanguíneas compatíveis para exercer sua atividade antimicótica.

Seu espectro de ação cobre dermatófitos, leveduras e outros fungos patogênicos. Em modelos animais, foi demonstrada sua atividade contra *Candida sp.*, dermatófitos (*Trichophyton sp.*, *Microsporum sp.*, *Epidermophyton floccosum*), *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum*, *Malassezia furfur*, *Coccidioides immitis* e *Cryptococcus neoformans*.

A despeito de sua eficácia clínica, existem relatos na literatura, de reações hepáticas adversas associadas ao uso desse importante agente terapêutico na clínica odontológica. Eis o objeto de estudo deste trabalho.

2 - REVISÃO DA
LITERATURA

2 - REVISÃO DA LITERATURA

O fungo *Cândida albicans* é o principal microrganismo saprófita comensal presente na cavidade oral, segundo observações de HOLMSTRUMP (1989) sendo encontrado em aproximadamente 50% dos adultos jovens saudáveis como componente da microflora oral (ARENDORF & WALKER, 1980), e também na cavidade do trato gastrointestinal e vaginal de indivíduos saudáveis.

É uma levedura, que apresenta-se na forma de pequenas células ovais (4 a 6 µm), de paredes finas, que se reproduz por brotamento, sendo classificado como um fungo imperfeito (Deuteromyceto), podendo apresentar três formas morfológicas nos tecidos: a leveduriforme que têm origem a partir de brotamento (blastóporos, blastoconídios) e nas formas filamentosas de pseudo-hifas e hifas verdadeiras, que tem origem a partir de constricções internas (CRISLIP & EDWARDS, 1989).

Entre os supostos fatores de virulência da *C. albicans* na etiologia da monilíase oral, incluem a variabilidade morfológica, a produção de enzimas extracelulares e a capacidade do microrganismo em interferir no sistema imune do hospedeiro. Em espécies patogênicas, a *C. albicans* é encontrada como uma mistura de blastóporos, pseudo-hifas e hifas verdadeiras, sendo que a formação de tubos germinais se configura como um importante fator de virulência (CRISLIP & EDWARDS, 1989).

A primeira linha de defesa contra as infecções orais pela *C. albicans* seria o epitélio intacto; a segunda seria a proliferação epitelial com descamação constante da mucosa e a terceira linha de defesa consistiria nos mecanismos que confinam e eliminam os microrganismos - imunidade humoral e a mediada por células - (IACOPINO & WATHEN, 1992).

Os leucócitos polimorfonucleares e os macrófagos são células fundamentais na defesa contra a *C. albicans*.

A importância dos leucócitos polimorfonucleares é demonstrada pelo aumento do risco de infecções orais e disseminadas por *Cândida* quando a contagem de leucócitos diminui em pacientes tratados com agentes antineoplásicos, sendo decorrente de uma diminuição na fagocitose e destruição dos organismos (ELIN *et alii*, 1974).

As primeiras descrições de lesões orais caracterizadas por estomatite, datam do tempo de HIPÓCRATES e GALENO. Em 1839, LANGENBECK observou fungos em lesões orais de seus pacientes. Pelos idos de 1841, BERG estabeleceu a etiologia micótica da estomatite pela inoculação de "material de membrana" de aftas em crianças saudáveis. Em 1843, ROBIN designou pela primeira vez o organismo então encontrado e incipientemente estudado de *Didium albicans*, desde então mais de 100 (cem) sinônimos foram dados a este microrganismo, persistindo porém, *Monília albicans*, idealizado por ZOPF em 1890 e *Cândida albicans*, criado por BERKHOUT em 1923 (MANDELL *et alii*, 1991).

Das mais de 150 espécies do gênero *Cândida*, apenas 10 (dez) espécies representam importância patológica para o homem. São elas, *Cândida albicans*, *Cândida guilliermondi*, *Cândida krusei*, *Cândida parapsilosis*, *Cândida stellatoidea*, *Cândida tropicalis*, *Cândida pseudotropicalis*, *Cândida lusitaniae*, *Cândida rugosa* e *Cândida glabrata*, sendo que a *Cândida albicans* tem sido responsável por aproximadamente 70% dos casos clínicos infecciosos diagnosticados (ODDS, 1987).

A transformação da *Cândida albicans* na sua forma patógena está portanto ligada a produção de pseudohifas e hifas verdadeiras, e sua colonização em uma cavidade do corpo poderá ocorrer quando as defesas do hospedeiro se encontrarem comprometidas decor

rentes de desarranjos locais ou sistêmicos como : Diabetes mellitus, Uso sistêmico de corticosteróides, antibióticos de amplo espectro, anovulatórios, ambientes quentes e úmidos, uso de drogas imunossupressoras, gravidez, grandes queimados, neoplasias do sistema hematopoético e reticuloendotelial, cirurgias gastrointestinais, cateteres intravenosos, nutrição parenteral prolongada, baixo peso em neonatos, distúrbios endócrinos (hipotireoidismo, hipoparatiroidismo) e a Aids (OKSALA, 1990).

Casos fatais de candidíase sistêmica, relacionados a exodontias, já há muito tempo são registrados. Em tais eventos a ocorrência de endocardite, meningite ou pneumonia, em virtude da disseminação hematogênica de *C. albicans* ou *C. pseudotropicalis* foi documentada (LEHNER, 1967).

Atualmente 6 (seis) formas de Candidíase oral, demonstram importância na clínica Odontológica, apesar da existência de outros tipos que são raros em sua ocorrência no ser humano (LEWIS *et alii*, 1991).

A **Candidíase Pseudomembranosa Aguda**, é classicamente descrita como o representante da candidíase oral, embora não seja a forma mais comum da doença (ALLEN, 1992). Placas brancas e cremosas representando uma massa de hifas, leveduras e células epiteliais descamadas, estão presentes em uma mucosa intacta e geralmente eritematosa, lembrando muito frequentemente a ricota ou leite coalhado.

Fatores que podem predispor incluem terapia antibiótica, xerostomia, terapia com corticóides inalatórios, principalmente no tratamento da Asma Brônquica e o tabagismo (LEWIS *et alii*, 1991).

A **Candidíase Atrófica Aguda**, é a forma mais comum, embora não seja tão bem conhecida como a forma pseudomembranosa.

Clinicamente esta aparece como um sinal vermelho, normalmente afetando a linha mediana posterior dorsal da língua. Uma alteração pode ser vista na porção do palato que fica imediatamente em contato com a lesão da língua, tais fenômenos são geralmente assintomáticos e podem ser observados em exames de rotina (ALLEN, 1992).

O uso de agentes antibacterianos sistêmicos ou corticosteróides tem sido responsabilizado por este tipo de candidíase. Embora outras áreas possam ser colonizadas, o dorso da língua e o palato se mostram particularmente afetados quando do uso de corticosteróides inalatórios (MANDELL *et alii*, 1991).

A Candidíase Atrófica Crônica ou "Estomatite de Dentadura", é decorrente de mudanças patogênicas nos tecidos gengivais, sendo mais frequente na mandíbula, afetando pouco mais de 65% dos usuários de dentadura. Esta levedura pode iniciar, manter e exacerbar a doença, sendo que áreas envolvidas se encontram com um vermelho brilhante, decorrentes do edema e eritema extensos (IACOPINO & WATHEN, 1992).

A Candidíase Hiperplásica Crônica, se configurara como uma das apresentações clínicas menos comum e é de certa forma controversa. Alguns pesquisadores acham que as placas brancas que não podem ser removidas por raspagem e ainda apresentam hifas de cândida na camada de queratina, simplesmente seriam decorrentes de uma infecção por esta levedura, superimposta à lesão queratótica pré-existente (ALLEN, 1992).

Os sinais e sintomas são variáveis, desde placas brancas localizadas e indolores até lesões eritroleucoplásicas que podem causar considerável desconforto ao paciente (LEWIS *et alii*, 1991).

O ato de fumar, de acordo com as observações de LEWIS

et alii (1991) aparece como um importante fator local para a iniciação ou perpetuação desta forma de patologia.

A **Queilite Angular** é uma infecção micótica intertriginosa, onde lesões eritematosas, escamosas ou fissuradas se desenvolveriam nas comissuras labiais, bilateralmente, e a cujo quadro micótico poderiam estar associadas infecções mistas por estafilococos e/ou estreptococos (LEWIS *et alii*, 1991).

TOMASI (1977) associou tal quadro a uma disfunção na dimensão vertical da arcada dentária, que propiciaria a formação de pequenas dobras ao nível de comissura, e estas mantendo-se unidas, favoreceriam a ação patogena do fungo.

Outra infecção candidial seria a **Glossite Rombóide Mediana**, que apareceria numa região de despapilação do dorso lingual, decorrente de uma atrofia papilar central. Apesar de ser uma infecção localizada, existem descrições que indicam o envolvimento do palato de pacientes infectados, decorrentes da produção de enzimas irritantes por esta levedura a nível de língua. Este quadro ocorre em cerca de 1% da população geral, mas é duas vezes mais comum em diabéticos (WALKER & ARENDORF, 1990).

A infecção por *Cândida* tem assumido uma inegável importância com o advento da AIDS epidêmica desde que a diminuição da sobrevivência de indivíduos infectados pelo vírus HIV também vêm acompanhada pela candidíase oral (SAMARANAYAKE & HOLMSTRUP, 1989).

Tradicionalmente o tratamento da candidíase oral, baseia no uso de agentes tópicos, evitando-se a administração sistêmica de muitos agentes antifúngicos cujos efeitos tóxicos são extensamente descritos (LEWIS *et alii*, 1991).

BRYGOO & COURDURIER (1955) estudando a atividade in

vitro de 33 (trinta e três) substâncias corantes sobre 69 leveduras do gênero *Cândida*, mostraram que 7 (sete) corantes pertencentes ao grupo das fenilmetanas se mostravam particularmente ativas, em especial, a Violeta de Genciana, a Violeta de Metila, o Verde Brilhante e o Verde Malaquita.

A Violeta Genciana, um quimioterápico oriundo das fenilmetanas é um antifúngico eficaz, sendo utilizada na forma de solução aquosa a 1%, tópicamente, no tratamento da Candidíase Pseudo-membranosa Aguda, embora possua inegáveis desvantagens cosméticas (MANSUR & GELFAND, 1981).

Segundo BUDTZ-JORGENSEN (1981) o tratamento para a Estomatite de Dentadura por *Cândida albicans*, pode ser realizado de duas formas :

- 1º) Remoção das fontes ;
- 2º) Eliminação da infecção nos tecidos.

Remover a fonte pode ser simplesmente a remoção da prótese mais frequentemente ou por períodos mais prolongados, pois os pacientes que usam dentadura, o fazem diuturnamente contribuindo para o acréscimo da irritação bucal à dentadura criando um ambiente úmido e quente propício para a proliferação deste microrganismo (OK-SALA, 1990).

A remoção da *Cândida* dos tecidos infectados na Estomatite de Dentadura pode ser feito com o uso de Nistatina tópicamente (BUDTZ-JORGENSEN, 1981).

Estudos preliminares sobre solução de ácido benzóico mostraram efeitos benéficos no controle da invasão da prótese pela *Cândida albicans* (IACOPINO & WHATEN, 1992). Outras alternativas são

o hipoclorito de sódio a 1% ou o gluconato de clorhexidine a 0,2% (SCULLY *et alii*, 1980), onde nestas soluções a prótese deve permanecer imersa enquanto o paciente dorme.

O Clloquinol, um quimioterápico derivado das 8-hidroxiquinolinas halogenadas, com propriedade amebicida, é outra droga utilizada para o tratamento específico da queilite angular, aplicando-se a substância na forma de creme a 3% ou unguento a 3% nos cantos da boca 3 a 4 vezes ao dia (ALLEN, 1992).

A Nistatina, um antibiótico poliênico, tem sido amplamente utilizada, no controle da Candidíase intraoral. Esta é formulada em drágeas com 500.000 unidades de Nistatina, que podem ser dissolvidos na boca 4 vezes ao dia ou então na utilização de Nistatina Suspensão com 100.000 unidades por mililitro, recomendando-se a administração de 1 a 5 ml a cada 6 horas, sendo colocada a metade da dosagem de cada lado da boca (ALLEN, 1992).

Com o advento da AIDS epidêmica, a candidíase oral assumiu grande destaque em odontologia, em função de que muitas drogas que convencionalmente eram utilizadas para tal fim se tornarem obsoletas, gerando a busca de compostos com atividade sistêmica que fossem capazes de debelar ou atenuar quadros infecciosos, oriundos pela proliferação leveduriforme, em pacientes imunologicamente debilitados.

A descoberta dos compostos Azóis ou Azólicos com atividade antifúngica nos fins da década de 60 e nos anos 70, representou importante etapa na terapêutica das micoses superficiais e profundas, pela sua grande eficácia, e tem se mostrado úteis no combate da candidíase oral em pacientes com AIDS.

Estas drogas são classificadas quimicamente em dois grupos, os derivados Imidazólicos representados pelo Clotrimazol,

Cetoconazol, Econazol, Enilconazol, Isoconazol e o Miconazol ; e os derivados Triazólicos representados pelo Fluconazol e Itraconazol.

Constituem Azóis ou Azólicos de 1ª geração o Clotrimazol, Econazol, Enilconazol, Isoconazol, Miconazol, sendo a maioria de uso tópico. O cetoconazol, foi primeiro antifúngico oral de 2ª geração e de amplo espectro de ação. São considerados de 3ª geração os dois novos agentes anti-fúngicos triazólicos, ativos oralmente, parenteralmente e tópicamente, Fluconazol e Itraconazol (LACAZ & NEGRO, 1989).

O mecanismo de ação das drogas antifúngicas derivadas imidazólicas e triazólicas, com ênfase particular para o cetoconazol, foi revisada por vários autores nos últimos anos, sendo unânime a opinião de que o principal sítio de ação destas drogas reside na membrana de fungos susceptíveis, inibindo a biossíntese do Ergosterol, o principal lipídio da membrana da *Cândida albicans*, entre outros lipídeos. Tem sido postulado que o mecanismo provável para alcançar tal objetivo, se deve a inibição da atividade da 14 alfa-desmetilase citocromo P-450 lanosterol dependente (BORGERS, 1984).

Os esteróis metilados no carbono 14 seriam incapazes de substituir o Colesterol ou Ergosterol em células que deles dependessem, fazendo com que houvesse um acúmulo do esterol 14 alfa-metil lanosterol, resultando no desenvolvimento de uma membrana citoplasmática deficiente em Ergosterol, que se tornaria progressivamente permeável, acarretando alterações bioquímicas traduzidas pela perda de constituintes celulares como proteínas, aminoácidos, nucleotídeos, cátions monovalentes, aliada a falhas na absorção de nutrientes extracelulares importantes (BORGERS *et alii*, 1983).

Muitas das informações sobre a eficiência e o mecanismo do cetoconazol, foram obtidos graças a estudos utilizando a *Cândida albicans*, sendo que nesta espécie existe a evidência que o

Cetoconazol teria dois mecanismos de ação. Um mecanismo fungistático em concentrações baixas, que estaria relacionado a inibição da síntese dos ergosteróis da membrana celular, e outro fungicida em concentrações mais elevadas, relacionado com dano direto a membrana celular (BORGERS *et alii*, 1983), apesar de estudos recentes apontarem para um mecanismo adicional da atividade antifúngica exercida por esta droga, onde haveria a inibição da atividade do citocromo *c*-peroxidase e do citocromo *c*-catalase, ocasionando o acúmulo intrafúngico, a níveis letais, de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), provocando a necrose de componentes intracelulares (LACAZ & NEGRO, 1989).

Estudos morfológicos indicam que o cetoconazol afeta a transformação da *C. albicans* da forma leveduriforme em brotamento para a forma pseudo-micelial o qual é a forma predominantemente encontrada em estados infecciosos (BORGERS *et alii*, 1983).

O Cetoconazol foi o 1º derivado imidazólico, que demonstrou produzir níveis sanguíneos terapêuticos quando administrado por via oral, sendo desde então utilizado no tratamento da candidíase crônica mucocutânea, candidíase gastrointestinal e candidíase em pacientes imunocomprometidos, sendo crescente o uso desta droga para o tratamento de infecções orais, faríngeas e esofágicas por *C. albicans*, sendo uma alternativa conveniente à Nistatina oral, podendo apresentar atividade semelhante ou superior a esta (JONES, 1984).

CAUWENBERGH *et alii* (1981) estudando a terapia adequada para a Moniliíase oral, observou que 77% dos adultos tratados com esta droga na dosagem que variava de 200 a 400 mg/dia por via oral em tratamentos cuja duração não excedia a uma semana, apresentaram a remissão total do quadro infeccioso. Em crianças de 30 meses de idade a cura girou em torno de 85%, quando tratadas com uma suspensão de cetoconazol na dosagem de 20 mg/dia dividido em três tomadas diárias durante 3 semanas.

MEUNIER-CARPENTIER (1983) constatou que 17 dos 21 pacientes tratados com cetoconazol na dose de 600 mg/dia, apresentaram melhora clínica, confirmando outros trabalhos na qual pacientes portadores de Candidíase orofaríngea associado a estado de imunodeficiência também apresentaram resultados satisfatórios na remissão do quadro infeccioso quando fizeram uso da droga (FANZIO *et alii*, 1983).

Em odontologia esta droga tem sido utilizada para o tratamento da candidíase oral, sendo prescrito um comprimido de 200 mg/dia, em tomada única diária, às refeições, em um tratamento que pode variar de uma a duas semanas. Em casos onde não haja resposta terapêutica adequada a dose poderá ser aumentada para 400 mg/dia em tomada única diária. Em crianças a dose média é de 3 mg/kg/dia ou 50 mg para crianças cuja idade varia de 1 a 4 anos e 100mg/dia para crianças cuja idade varia entre 5 a 12 anos (MARTINDALE, 1991).

O Fluconazol, tem se mostrado muito efetivo no tratamento da Candidíase oral, principalmente em pacientes Aidéticos. O regime de tratamento no combate à candidíase oral em pacientes com infecção por HIV é variável, onde doses de 50 mg a 400 mg dadas por vários dias e semanas, em tomada única diária têm sido recomendadas (LEWIS *et alii*, 1991).

O Itraconazole, outro composto triazólico tem sido utilizado e se mostrado efetivo no combate da Candidíase oral crônica e na candidíase pela infecção do vírus HIV. As doses em estudos, variam de 100 mg/dia em tomada única diária, no combate de candidíases crônicas em pacientes não imunodeprimidos a 200 mg/dia em pacientes imunodeprimidos, principalmente os Aidéticos, pois nesta condição clínica a absorção oral desta droga está diminuída (LEWIS, *et alii*, 1991).

O cetoconazol tem sido responsabilizado por anormali-

dades assintomáticas traduzidas por elevação sérica de enzimas hepáticas e por alterações hepáticas sintomáticas caracterizadas por quadros patológicos de hepatite (HANIFIN, 1982 ; JONES 1984 ; LEWIS *et alii*, 1984).

Elevações transitórias das aminotransferases , aspartato-aminotransferase e alanina-aminotransferase no sangue de pacientes tratados com cetoconazol tem sido documentadas por vários trabalhos onde uma variação de 0,1% a 12% podem ser encontrados (HANIFIN, 1982 ; GRAYBILL & CRAVEN, 1983 ; JONES, 1984 ; LEWIS *et alii*, 1984 e VAN TYLE, 1984).

Descrições, como de HANIFIN (1982) e JONES (1984) abordam aspectos referentes aos níveis elevados das aminotransferases em pacientes tratados com cetoconazol, onde segundo estes autores os aumentos não estariam associados com sintomas sugestivos de hepatite, sendo que os níveis rapidamente decresciam uma vez interrompido o tratamento e muitas vezes apesar da continuidade da terapia.

Quadros de hepatite sintomática causada pelo uso do cetoconazol, foram apresentadas como doença icterícia (icterícia, urina escura e fezes esbranquiçadas) ou com sintomas tais como : febre, fadiga, fraqueza, indisposição, anorexia, náuseas e vômitos (JONES, 1984), sendo que os primeiros casos foram relatados em 1980 e 1981 (LEWIS *et alii*, 1984).

Por meados de setembro de 1982, um total de 46 casos de reações hepáticas, foram notificados, e a incidência de tais reações foi estimada em 1:12.000 pacientes tratados com esta droga (JANSSEN & SYMDENS, 1983).

BOUGHTON (1983) também enfatizou que tais reações eram extremamente raras, sendo que sua ocorrência estava estimada em

1:10.000 a 1:15.000 pacientes tratados com o cetoconazol, apesar de mortes por falência hepática com necrose maciça terem sido relatadas.

Pelo final de janeiro de 1983, 96 casos de lesão hepática foram documentados, de uma estimativa aproximada de 1,3 milhões de pacientes tratados no mundo todo. Significativamente os danos hepáticos não foram relacionados às doses diárias ou dose total acumulada de cetoconazol, sendo que a maioria dos casos ocorreu na dosagem de 200 mg ao dia, com os sintomas surgindo dentro de 1 a 24 semanas de terapia, preferencialmente em 9 semanas. Dos 96 casos referidos acima, a maioria dos pacientes recuperou-se sem maiores problemas após a descontinuidade do tratamento com o cetoconazol, no entanto 3 pacientes morreram de coma hepático e cada um deles tinha continuado a se expor ao medicamento por 10 a 20 dias apesar dos sintomas claros de hepatite (BOUGHTON, 1983).

LEWIS *et alii* (1984) revisando 33 casos de hepatite que provavelmente teriam sido causados pelo cetoconazol e que tinham sido reportados à Food and Drug Administration dos Estados Unidos, e na qual entre estes havia um paciente que tinha ido a óbito decorrente de falência hepática com necrose maciça, constatou que com exceção do paciente citado acima os demais sobreviveram sem sequelas, com os quadros de anormalidades bioquímicas do sangue e de icterícia desaparecendo num período médio de 7 semanas, após a interrupção do tratamento.

O cetoconazol foi introduzido no Reino Unido em 1981. Em 1984, 82 casos de possível hepatotoxicidade associado com cetoconazol, que incluíam 5 mortes, tinham sido notificadas ao Committee on Safety of Medicines. Analisando 75 casos que tinham sido adequadamente acompanhados, as reações foram classificadas como prováveis em 16 pacientes, possíveis em 48 pacientes, improváveis em 5 pacientes e sendo inclassificáveis em 6 pacientes. Os 16 pacientes no qual

a relação com o tratamento com o cetoconazol era provável, tinham idade entre 36 e 79 anos, 11 eram do sexo feminino e 5 eram sexo masculino, o começo do quadro icterico ocorrera após 5 a 195 dias de terapia por esta droga. Os resultados dos testes da função hepática sugeriram danos hepatocelulares em 10 pacientes e um quadro misto entre hepatocelular e colestático nos demais. Três pacientes evoluíram para o óbito, sendo que 2 tinham continuado a receber o Cetococonazol após o desenvolvimento dos sinais e sintomas de injúria hepática, com um deles evoluindo para descompensação hepática após 2 meses da interrupção do tratamento, apesar de durante este período não apresentar sintomas sugestivos de alterações hepáticas. As características dos 48 pacientes aos quais os danos hepáticos estavam possivelmente associados com o uso do cetoconazol eram similares, embora houvesse alta incidência de dano hepatocelular misto. A maioria dos pacientes desta análise, que apresentaram alterações hepatocelulares, se recuperaram quando da interrupção do tratamento e os resultados dos testes enzimáticos retornaram ao normal depois de um prazo médio de 7 dias a 6 meses. (G. LAKE-BAKAAR *et alii*, 1987).

MARTINDALE (1991) relata um levantamento sobre 1074 pacientes que receberam cetoconazol em doses diárias que variavam de 50 mg a 1000 mg por períodos de tempo de até 15 meses. Dentre estes 8% já apresentavam elevação sérica de enzimas hepáticas, aumentando para 11% com o tratamento e diminuindo para 3% próximo ao final do tratamento. Houve 31 casos de reações hepáticas sintomáticas, 25 dos quais com quadro icterico. A maioria dos pacientes estava sendo tratadas contra oncomicoses e os sintomas ocorreram após períodos variáveis de tempo de 1 a 24 semanas de tratamento.

Os pacientes apresentavam idade entre 5 e 90 anos; 18 eram mulheres e 13, homens. Pelo menos 9 tinham histórico de idiosincrasia por outras drogas, 8 tinham história progressiva de hepatite e pelo menos 14 já tinham sido tratados com griseofulvina e 19 estavam recebendo outras drogas concomitantemente. O tratamento foi in-

terrompido em 30 pacientes, todos as quais se recuperaram, exceto um que morreu de necrose maciça hepática. Em dois desses a terapia foi reintroduzida e ambos apresentaram novamente alterações sintomáticas, após aproximadamente duas semanas de tratamento, sendo porém a reação menos severa do que no tratamento original. O único paciente em que a terapia não foi descontinua recuperou-se sem maiores problemas dentro de um mês enquanto ainda estava tomando a droga.

STRICKER *et alii* (1986) analisou 55 casos de hepatite relacionados com o uso do cetoconazol e que foram notificados ao Netherlands Centre for Monitoring of Adverse Reactions to Drugs. Dos 55 casos que tinham histórico de uso desta droga e que tinham sido adequadamente acompanhados, as reações foram classificadas como prováveis em 27 pacientes e possíveis em 23 pacientes e improváveis em 5. Dos pacientes, 84% eram mulheres, 46% destas tinham mais que 50 anos. Em 70% de todos os casos de injúria hepática, o aparecimento das reações ocorreu nas primeiras 6 semanas de terapia, sendo que nos casos prováveis tais alterações ocorreram mais tardiamente.

O quadro icterico estava presente em 44% de todos os casos, mas com uma taxa mais elevada de incidência no grupo provável (63%). Outros fenômenos como eosinofilia (10%), febre (6%) e Rash cutâneo (2%) foram achados incomuns. Bioquimicamente o padrão foi de lesão hepatocelular em 54%, colestatico em 16% e misto colestatico e hepatocelular em 30%. A histologia revelou que em 14 casos havia um padrão hepatocelular em 57%, com necrose centrolobular moderada a extensa. Em 43% dos pacientes a colestase predominou e nenhum caso de óbito foi observado.

A incidência de injúria hepática sintomática neste relato por **STRICKER *et alii* (1986)** foi estimada em 1:2.000 pacientes tratados com esta droga, sendo inclusive provavelmente mais alta.

DUARTE (1984) relatou um caso de hepatite fatal, em

uma mulher de 67 anos de idade, que recebeu 200 mg de cetoconazol por dia durante 2 meses. A paciente no transcorrer do tratamento apresentou icterícia progressiva, anorexia e fraqueza, sendo que os níveis de aminotransferases encontravam-se elevados ao dar entrada no hospital, com o quadro evoluindo em poucas horas para o óbito. Exames histológicos na necrópsia revelaram uma extensa e aguda necrose hepática sem evidências clínicas ou sorológicas de hepatite de cunho viral, sendo o cetoconazol responsabilizado como agente causal de tal quadro.

VILELA *et alii* (1989) descreveram 4 casos de toxicidade hepática na terapia pelo cetoconazol, sendo que todos os pacientes eram do sexo feminino, e que tinham utilizado 200 mg em dose única diária durante um período que variou de 8 a 16 semanas. As condições clínicas das 4 pacientes foi similar ao da hepatite viral, sendo que a normalização dos testes clínicos de laboratório aconteceram 60 a 90 dias após a descontinuidade do tratamento, não havendo relatos de morte.

É interessante ressaltar o caso de uma das pacientes que recebeu cetoconazol após a remissão das alterações enzimáticas séricas, ter apresentado hepatite tóxica recorrente após 15 dias de tratamento, onde a segunda descontinuidade no uso dessa droga levou novamente a remissão do quadro tóxico.

Segundo observações de vários pesquisadores, o fenômeno de toxicidade hepática induzido pelo cetoconazol, estaria envolvido por complexo mecanismo de idiossincrasia metabólica (OKUMURA *et alii*, 1983 ; LEWIS *et alii*, 1984 ; MOSCA *et alii*, 1985 ; STRICKER *et alii*, 1986 e G. LAKE-BAKAAR *et alii*, 1987).

Estudos contemporâneos tem revelado que muitas reações medicamentosas tóxicas resultam de um evento iniciador comum: a ativação metabólica de substâncias quimicamente estáveis para

potentes agentes que causam alcoilação, arilação ou acilação no organismo. Desse modo, uma razão capital para a suscetibilidade do fígado à lesão seria o papel central desempenhado por este órgão no metabolismo de medicamentos.

Está atualmente comprovado que muitos medicamentos e substâncias químicas são convertidos em metabólitos quimicamente reativos pelo fígado, se ligando de modo covalente com proteínas enzimáticas como as oxidases do citocromo P-450 hepático, *in vitro*. A manifestação de toxicidade causada pelos metabólitos medicamentosos reativos dependeria de vários fatores farmacocinéticos, a saber: velocidade de formação, reatividade intrínseca, velocidade de destoxificação dos metabólitos tóxicos e a velocidade da reparação tecidual pelo órgão lesado (MITCHELL & POTTER, 1975).

Quando substâncias potencialmente hepatotóxicas como o paracetamol, fenacetina e furosemida são radiomarcadas e administradas a animais ao longo de uma ampla faixa posológica, pode-se mostrar que se ligam de modo covalente com macromoléculas dos tecidos. Como são substâncias quimicamente estáveis, o achado de uma ligação covalente com macromoléculas de seu tecido-alvo, o fígado, demonstra que são convertidos no organismo em agentes alcoilantes ou arilantes. É interessante ressaltar, que o pré-tratamento dos animais com indutores enzimáticos do metabolismo, como o fenobarbital, ou com inibidores do metabolismo, como o piperonil butóxido, altera de maneira semelhante a taxa de metabolismo da substância, a gravidade do quadro necrótico celular e a extensão da ligação hepática por metabólitos radiomarcados (MITCHELL & POTTER, 1975).

Para ROBBINS *et alii* (1986) a hepatotoxicidade por agentes terapêuticos é raramente decorrente do efeito direto do próprio medicamento sobre a célula hepática.

LEWIS & ZIMMERMAN (1989) justificou a doença hepática farmacogênica através de dois mecanismos distintos:

- 1º) Fenômeno de hepatotoxicidade Intrínseca, Previsível ou Direta ;
- 2º) Fenômeno de hepatotoxicidade Idiossincrásica, Imprevisível ou indireta.

A hepatotoxicidade Intrínseca, descrita por LEWIS & ZIMMERMAN (1989) ou hepatotoxicidade Previsível ou Direta descrita por ROBBINS *et alii* (1986) são unitermos que designam um mesmo tipo de evento, onde a biotransformação do medicamento se processaria no fígado com a formação de metabólitos tóxicos.

Esta hepatotoxicidade se caracterizaria por :

- (1) Ser dose dependente ;
- (2) Apresentar um intervalo relativamente curto entre a ingestão da droga e a reação adversa ;
- (3) induzir alterações hepáticas semelhantes em animais de laboratório.

As principais drogas envolvidas por este mecanismo segundo LEWIS & ZIMMERMAN (1989) seria o CCl₄, anabolizantes, valproato, tetraciclina, Paracetamol.

A hepatotoxicidade Idiossincrásica por sua vez, segundo LEWIS & ZIMMERMAN (1989) pode ser subdividido em dois tipos:

- 1º) Naqueles cujo medicamento ou mais provavelmente um de seus metabólitos funcionaria como hapteno para transformar uma proteína intracelular numa molécula antigênica. ROBBINS *et alii* (1986) atribuiu a este fenômeno a designação de hepatotoxicidade Indireta ou Imprevisível.

A lesão atribuível à hipersensibilidade em geral ocorre após um período de sensibilização de 1 a 5 semanas e, muitas vezes, está associada às manifestações clínicas de hipersensibilidade (febre, exantema, eosinofilia) bem como a evidências histológicas de alergia ao medicamento (inflamação eosinofílica ou granulomatosa) (LEWIS & ZIMMERMAN, 1989).

Ainda, segundo LEWIS & ZIMMERMAN (1989) linfocitose, linfócitos "atípicos", e a linfadenopatia são frequentes, com tal quadro muitas vezes se assemelhando à doença do soro ou à mononucleose infecciosa.

O reaparecimento dos sintomas clínicos no paciente, traduzidos por anormalidades enzimáticas séricas, após uma dose do teste, é característico e permite inferir-se que o medicamento (ou seu metabólito) atuou como hapteno.

A hepatotoxicidade Idiossincrásica por hipersensibilidade se caracteriza por :

- (1) Ausência de dependência da dose para a lesão hepática ;
- (2) apresentar um retardo entre a exposição e a reação hepática ;
- (3) Apresentar uma ampla frequência de outras manifestações alérgicas, como, por exemplo, febre, erupção cutânea e eosinofilia ;
- (4) Exacerbar a reatividade do organismo quando de uma nova exposição ao medicamento.

LEWIS & ZIMMERMAN (1989) citou os principais medicamentos que estariam envolvidos numa resposta idiossincrásica hipersensibilizante acarretando lesão hepática (Fenitoína, Sulfonamidas, Estolato de Eritromicina, Clorpromazina).

II: E naqueles cujo medicamento, após dias, semanas ou meses de

exposição, desenvolveriam a lesão hepática, sem os sinais clássicos de hipersensibilidade, e sem a correlação com a dose administrada, sendo que tal fenômeno teria origem a partir da biotransformação da droga que originaria metabólitos tóxicos, responsáveis então pelas alterações hepatotóxicas idiossincrásicas em pacientes susceptíveis. Uma característica importante neste evento seria que o retardo de alguns dias ou semanas na recidiva da lesão hepática após a readministração do medicamento. Isto seria um possível indicativo para o reconhecimento da idiossincrasia metabólica. Os medicamentos que possivelmente estariam relacionados com a Idiossincrasia metabólica de acordo com LEWIS & ZIMMERMAN (1989) seriam o Cetoconazol, Halotano, Hidralazina e a Isoniazida.

Além de alterações morfológicas e funcionais induzidas pelo cetoconazol e que foram abordados, vários trabalhos têm demonstrado, tanto *in vitro* como *in vivo*, a capacidade seletiva do cetoconazol de interferir no metabolismo hepático à outras drogas em diferentes modelos experimentais.

NIEMEGER *et alii* (1981) estudando quatro antimicóticos derivados imidazólicos, *in vivo*, dentre eles o cetoconazol, observaram que a duração da hipnose pelo metoexital e o tempo de pró-trombina induzido pelo acenocumarol em ratos, tiveram um aumento significativo, quando da administração destes antifúngicos, sugerindo importantes interações entre o cetoconazol e os microsossomos hepáticos no metabolismo de outras drogas.

SHEETS & MASON (1984) observou em estudos *in vivo*, que o cetoconazol apresentava uma potente atividade inibitória da N-desmetilase dos microsossomos hepáticos de ratos pré-tratados com fenobarbital ou pregnolona 16 alfa-carbonitrila. Tal estudo sugeriu que de acordo com estudos espectrofotométricos, o sítio de ligação do cetoconazol, ocorreria a nível do citocromo P-450 do complexo monoxigenase, sistema este importante no metabolismo de outras drogas.

BROWN *et alii* (1985) demonstraram a interferência do cetoconazol no metabolismo oxidativo hepático, *in vivo*, no ser humano, utilizando o clordiazepóxido e a teofilina. Estes estudos foram conduzidos antes e após a variação das doses de cetoconazol dentro de uma amplitude de doses terapêuticas. Após uma única dose de cetoconazol, o clearance hepático do clordiazepóxido diminuiu em 20%, não sendo relacionado aparentemente à dose administrada, sendo que o clearance hepático da teofilina não sofreu alteração. Em doses repetitivas o clearance hepático do clordiazepóxido decresceu ainda mais, passando para 36%, sendo que as concentrações reduzidas do seu primeiro metabólito oxidativo o N-desmetilclordiazepóxido foram observados no sangue dos pacientes tratados. Os autores concluíram que o cetoconazol inibiria pelo menos um dos passos do sistema oxidativo de função mista do fígado, mas não se configuraria como um inibidor geral do metabolismo hepático de drogas como ocorre a cimetidina.

MOSCA *et alii* (1985) estudando a possível interferência do cetoconazol nas oxidases de função mista do fígado, analisaram a atividade enzimática da Etilmorfina N-desmetilase (E-DM) e da anilina hidroxilase (A-OH) em homogenados de microsossomos de fígado de ratos, na presença de doses crescentes de cetoconazol. A inibição da E-DM foi quase completa em doses de 250 ug, porém um efeito muito mais fraco foi observado em relação a A-OH. "In vivo", também foi observado uma inibição significativa da E-DM, quando da administração em ratos. Oralmente por 7 dias em doses de 100 mg/Kg/dia ou intraperitonalmente por 4 dias com doses entre 50 a 100 mg/Kg/dia. Somente após a administração intraperitonal de 100 mg/Kg/dia da droga por 4 dias é que a atividade de A-OH foi significativamente reduzida, porém a atividade do NADPH citocromo c redutase não foi afetada com as doses e vias de administração consideradas.

Modelos de inibição e ligação do cetoconazol, com as enzimas dependentes do NADPH citocromo P-450 foram investigados por HIGASHI *et alii* (1987) utilizando frações subcelulares de fígado de

ratos. O cetoconazol segundo as observações destes autores, inibiu a atividade da 17 alfa-hidroxiase e C17 20-liase esteroidal, em fígados de ratos, revelando que o susposto mecanismo seria decorrente da ligação desta droga ao citocromo P-450 e não a outros componentes do sistema monooxigenase.

RODRIGUES *et alii* (1987) estudaram a atividade de três derivados imidazólicos, cuja ação inibitória potente das oxidases de função mista do citocromo P-450 e não a outros componentes do sistema monooxigenase tinham sido descritas. Os estudos mostraram que todas as drogas testadas, dentre as quais o cetoconazol apresentaram potente atividade inibitória na O-deetilacão da etoxicumarina pelo citocromo P-450, fenobarbital induzível, sendo a atividade destes compostos inferior na inibição da O-deetilacão da etoxicumarina pelo citocromo P-448, 3-metilcolantrene induzível, evidenciando uma inibição seletiva dos microsossomos hepáticos a outras drogas. Concluiu-se em parte que o efeito inibitório destes agentes, seria decorrente de uma inibição competitiva do cetoconazol pelos sítios de ligação de outras drogas ao citocromo P-450.

Um trabalho recente descreveu a importante interação entre drogas distintas, que possuem como via metabólica comum, o fígado.

A ciclosporina, um agente imunossupressor, sofre metabolismo hepático, através das oxidases de função mista pelo citocromo P-450. Estudando a interação farmacocinética entre o cetoconazol e a ciclosporina, **FIRST *et alii* (1991)** monitorizando 36 pacientes receptores de transplante renal, administraram ciclosporina como parte de um regime tríplice imunossupressivo. O tratamento com o cetoconazol foi iniciado com dose de 200 mg/dia por via oral, sendo que a dose da ciclosporina foi reduzida em até 70%, no início do tratamento combinado. No princípio do tratamento com a ciclosporina sem o cetoconazol, a dose padrão utilizada era de 420 mg dia

(5mg/Kg/dia). Após um ano da introdução do cetoconazol na terapia combinada a dose do agente imunossupressor decresceu para 66 mg/dia (0,9 mg/Kg/dia), representando uma redução na dose deste agente por volta de 84,6%.

Os autores (FIRST *et alii*, 1991) chegaram a conclusão que o cetoconazol associado a ciclosporina resultou numa inibição significativa do metabolismo do agente imunossupressor, com repercussão na dosagem diária diminuída. Sendo a ciclosporina um medicamento caro e potencialmente nefrotóxico, os pesquisadores obtiveram com esta associação, uma redução no custo final do tratamento, assim como diminuição dos efeitos deletérios na função renal.

É através do trabalho de HIGGINS & ANDERSON (1931) que foi desenvolvido, em ratos, uma técnica de hepatectomia parcial que consiste na extirpação dos lóbulos central e lateral esquerdo do órgão, correspondendo a uma ressecção de 70% ou de 2/3 da massa hepática. Graças a essa técnica estudos de elevado nível científico puderam ser realizados, abordando aspectos distintos da sequência de eventos que precipitam após o trauma cirúrgico, e a possível interferência de drogas cuja literatura acusa como sendo potencialmente hepatotóxicas. A avaliação de aspectos bioquímicos relacionados ao tecido previamente hepatectomizado tem sido objeto de muitos estudos, principalmente quando os animais são tratados com substâncias medicamentosas cuja atividade sobre o hepatócito em regeneração, ainda são desconhecidos.

Segundo FAUSTO & MEAD (1989), depois do desenvolvimento fetal e pós-natal do fígado, os hepatócitos não se proliferam ativamente. Em adultos humanos e animais, os hepatócitos alcançam longa vida, em torno de 200 a 400 dias ou mais. Os hepatócitos só se dividem em resposta a morte celular hepática ou perda de tecido hepático. A proliferação do hepatócito ocorre na hepatite viral, cirrose, reações hepatotóxicas medicamentosas e necrose maciça do fígado.

do, bem como em outras condições. Isso pode ser induzido em animais de laboratório através da hepatectomia parcial ou pela morte celular causada por agentes químicos. Em todos estes casos, o crescimento hepático seria caracterizado como uma resposta compensatória ao decréscimo da massa hepática ou a perda celular.

As maiores características da regeneração hepática depois da hepatectomia parcial em ratos, são bem conhecidos e tem sido questão de estudos detalhados desde **HIGGINS & ANDERSON** (1931), onde é descrita a técnica de retirada parcial do fígado de rato (aproximadamente 70% do fígado é removido no processo padrão):

Para **GRISHAM** (1962) as principais características da regeneração hepática após a hepatectomia são :

- (1) Um mínimo de 10 a 20% da massa hepática dispara o gatilho para a resposta regenerativa ;
- (2) A existência de uma proporção razoável entre a extensão da síntese de DNA pelos hepatócitos e a quantidade de tecido removido ;
- (3) Devido a retirada completa e intacta dos lóbulos hepáticos, nenhum ferimento ou superfície exposta é criada nos tecidos remanescentes, não ocorrendo nenhum fenômeno associado com a cura da injúria (exsudato inflamatório, tecido de granulação) ;
- (4) A resposta ao crescimento consiste no aumento do tamanho dos lóbulos hepáticos remanescentes, através da hiperplasia e hipertrofia celular, mas os lóbulos que foram removidos não crescem novamente ;
- (5) A síntese de DNA nos hepatócitos é razoavelmente bem sincronizada e não começa antes de 12 horas após a cirurgia, porém atingindo o pico em 24 horas ;

(6) Com os processos regenerativos ativados o fígado dobra de peso em 48 a 72 horas depois da operação e cessa seu crescimento em 7 a 10 dias quando sua massa atinge o valor original do fígado intacto.

A replicação do hepatócito no fígado humano ocorre mais frequentemente como uma resposta à injúria hepática causada por agentes químicos, viroses e anoxia, porém nenhuma dessas condições pode ser exatamente reproduzida em modelos experimentais, apesar de um largo número de agentes químicos (necrogênicos e não necrogênicos) causar injúria hepática, e induzir o crescimento hepático em animais de laboratório. Os agentes mais utilizados são o CCl_4 e a galactosamina (FAUSTO & MEAD, 1989).

Aparentemente existe uma interrelação entre o crescimento hepático e seu comportamento diante da introdução de drogas com atividade citotóxica, no período regenerativo. Um dos mais interessantes desenvolvimentos nesta área é encontrado pelo termo de "multidrug resistant gene" (mdr) que aumentaria depois da hepatectomia parcial (THORGEIRSSON *et alii* 1987), tendo como consequência, um fenômeno hepatoprotetor contra os efeitos citotóxicos de muitas drogas, quando das células em regeneração.

A maior diferença entre o crescimento hepático depois da hepatectomia parcial começa nos lóbulos intactos, contrastando com o da injúria química que leva a morte celular, onde a regeneração inicia-se a partir do tecido lesado (FAUSTO & MEAD, 1989).

A enzimologia sérica e a hepatotoxicidade experimental tem mantido uma íntima relação, onde o desenvolvimento clínico ou a experimentação através de testes enzimáticos para o reconhecimento de patologias hepáticas, tem dependido do estudo de agentes hepatotóxicos conhecidos como o CCl_4 e a galactosamina, empregados sob condições padronizadas. A importância de tais testes, esta substantiada na importância de testes comparativos de hepatotoxicidade

de agentes cujos efeitos são desconhecidos em relação aos que toxicologicamente já foram esclarecidos como o CCl_4 e a galactosamina. A constatação de injúria celular hepática pode ser facilitada pela análise do perfil enzimático de enzimas que se encontram preferencialmente em organelas como a aspartato-aminotransferase, assim como das enzimas que se encontram no citoplasma, como a aspartato-aminotransferase e alanina-aminotransferase (ZIMMERMAN, 1974).

As enzimas de interesse diagnóstico nas alterações morfofuncionais hepáticas, são antes de tudo catalizadores orgânicos, responsáveis pela maior parte das reações do metabolismo intermediário no fígado, sendo que algumas delas têm sido identificadas no plasma ou soro, para a qual passam a partir de células lesadas ou em sofrimento (ZIMMERMAN, 1974)

O interesse pela enzimologia sérica, teve grande impulso quando da descoberta, em 1953, da aspartato-aminotransferase e da alanina-aminotransferase no soro de indivíduos normais e a observação subsequente de que os aumentos dos níveis destas enzimas tinham utilidade para o diagnóstico de doença hepática (HENRY, 1989).

Clinicamente as enzimas poderiam ser classificadas de acordo com o seu local de ação ou atividade enzimática em: enzimas extracelulares ou enzimas plasmáticas funcionais, tendo como representantes a lipoproteína-lipase, pseudocolinesterases e proenzimas da coagulação sanguínea e da fibrinólise; e enzimas intracelulares ou enzimas plasmáticas não funcionais, tendo como representantes desta última a aspartato-aminotransferase e a alanina-aminotransferase, alvos do presente estudo, e que não executariam qualquer função conhecida no sangue, porém tendo sua atividade medida no plasma com o objetivo de diagnóstico e prognóstico de injúria celular hepática (HARPER, 1982).

KING (1968) relacionou a atividade transaminásica de

alguns tecidos humanos tomando a atividade no soro como unidade, e observou que alanina-aminotransferase mostrava uma alta atividade enzimática especificamente no fígado em relação à outros tecidos. Já a aspartato-aminotransferase possuía alta atividade tanto no fígado como no coração, notadamente também na musculatura estriada esquelética.

É de suma importância ressaltar que em cada tecido, estas enzimas intracelulares podem ser encontradas em concentrações diferentes e com níveis de atividade catalítica diferenciados, com suas funções específicas intimamente relacionadas às necessidades metabólicas particulares dos tecidos envolvidos, sendo que um enorme gradiente de concentração pode ser observado entre os compartimentos intra e extracelulares (PRICE & STEVENS, 1982).

Isto pode ser observado no trabalho de KING (1969) que mostra a diferença da atividade enzimática da alanina-aminotransferase no fígado em relação ao plasma, sendo esta 2850 vezes mais ativa no hepatócito do que fora dele, e da asparto-aminotransferase, sendo esta 7100 vezes mais ativa no tecido hepático em relação ao sangue.

Nas células normais segundo KOZLOWSKI JUNIOR (1991), existe um equilíbrio entre a síntese e a degradação das enzimas, com pequenas quantidades libertando-se para o espaço extracelular, o que permite nos indivíduos saudáveis a atividade das enzimas plasmáticas não funcionais oscilar dentro de determinados limites. Entretanto, quando ocorrem alterações nesta homeostasia através de uma permeabilidade aumentada das membranas celulares, destruição da estrutura celular ou síntese enzimática, forma-se um gradiente de concentração extraordinariamente elevado entre os espaços intra e extracelulares.

Para ADOLPH & LOREZ, 1980, muitas doenças hepáticas apresentam-se com sintomas atípicos ou mesmo assintomáticos, desta

maneira a determinação da atividade das enzimas celulares no soro, constitui-se num indicador precoce de lesão hepática, cuja sensibilidade assegura confiabilidade e rapidez no diagnóstico de alterações hepatocelulares, colestáticas ou mistas.

3 - PROPOSIÇÃO

3 - PROPOSIÇÃO

Em função dos exposto, pretendemos realizar o estudo do Cetoconazol, um quimioterápico derivado imidazólico de 2ª geração com atividade antifúngica, que tem sido responsabilizado por anormalidades morfológicas e funcionais a nível hepático, com os seguintes objetivos :

1 - Analisar o perfil da atividade enzimática sérica da Aspartato-aminotransferase (AST) em animais previamente tratados com Cetoconazol e que posteriormente foram submetidos à hepatectomia parcial.

2 - Analisar o perfil da atividade enzimática sérica da Alanina-aminotransferase (ALT) em animais previamente tratados com Cetoconazol e que posteriormente foram submetidos à hepatectomia parcial.

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1. ANIMAIS UTILIZADOS

Durante o procedimento experimental foram utilizados 105 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) machos, criados em condições padronizadas desde o nascimento, fornecidos pelo Centro de Bioterismo da UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS (UNICAMP). No início das experiências os animais apresentavam-se com pesos variando entre 210 e 240 gramas.

Os animais foram tratados com ração especial para animais de laboratório marca "LOBINA" (Purina Nutrimentos Ltda), granulada, e receberam água "*ad libitum*".

4.2. PREPARO EXPERIMENTAL DOS ANIMAIS

Para a realização de tal experimento foram utilizadas duas técnicas cirúrgicas distintas, a de hepatectomia parcial de HIGGINS & ANDERSON (1931) descrita e executada por MATTOS FILHO (1976) e o procedimento de falsa cirurgia descrito e executado por KANASHIMA *et alii* (1983).

Os animais sob leve anestesia com éter etílico, foram tricotomizados na região abdominal, que após esse ato foi desinfetada com a aplicação sobre o campo cirúrgico de PUPI (Polivinilpirrolidone Iodine) com seu teor de iodo a 10% (Povidine Tópico^R - Darrow Laboratórios S.A.). Uma vez preparados os animais, foram executadas as seguintes etapas para a realização da hepatectomia

parcial e falsa cirurgia respectivamente, com instrumentos cirúrgicos previamente submetidos à esterilização em autoclave.

4.3. TÉCNICA DA HEPATECTOMIA PARCIAL

1. Extrusão dos lóbulos hepáticos - após incisão ventral mediana de 3 a 4 cm, a partir da apófise xifóide do esterno, efetuando-se através de compressão da região abdominal, a extrusão dos lóbulos hepáticos mediano e lateral esquerdo, permanecendo na cavidade abdominal, os lóbulos lateral direito e pequeno caudado ("lóbulos residuais").

2. Ligamento e excisão dos lóbulos hepáticos - após a extrusão dos lóbulos mediano e lateral esquerdo, procedendo-se a secção dos ligamentos suspensores, ligadura dos lóbulos com fio de algodão e posterior extirpação ("lóbulos retirados").

3. União dos bordos da incisão abdominal - imediatamente após a extirpação dos lóbulos hepáticos, foi executada com fio de algodão, com a sutura da musculatura em primeiro plano e da pele em segundo plano, com pontos contínuos, sendo a região submetida novamente à antissepsia.

Todas as cirurgias foram realizadas em períodos de 9h00 e 11h00 para prevenir as variações diurnas nas respostas regenerativas (KANASHIMA et alii, 1983), sendo que cada procedimento cirúrgico de hepatectomia parcial foi realizado num tempo médio de 10 minutos.

4.4. TÉCNICA DA FALSA CIRURGIA

1. Extrusão dos lóbulos hepáticos - após incisão ventral mediana de 3 a 4 cm, a partir da apófise xifóide do esterno, efetuando-se através de compressão da região abdominal, a extrusão dos lóbulos hepáticos mediano e lateral esquerdo, permanecendo na cavidade abdominal os lóbulos lateral direito e pequeno caudado ("lóbulos residuais").

2. Recolocação dos lóbulos hepáticos mediano e lateral esquerdo expostos e intactos para o interior da cavidade abdominal após prévia manipulação.

3. União dos bordos da incisão abdominal, com fio de algodão, com sutura da musculatura em primeiro plano e da pele em segundo plano, com pontos contínuos, sendo a região submetida novamente a antissepsia.

Cada procedimento de falsa cirurgia foi realizado num tempo médio de 5 minutos.

4.5. DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os ratos foram divididos, ao acaso, em cinco grupos experimentais, sendo que quatro grupos eram constituídos por 25 animais cada, e um grupo por 5 animais :

GRUPO 1 : - As 25 unidades experimentais deste grupo foram tratadas com Cetoconazol*, preparado na forma farmacêutica de suspensão com 10 mg/ml, administrado por via intraperitoneal (i.p.), em dose

única diária de 20 mg/kg de peso, durante 3 dias consecutivos, sendo que após a última administração os animais eram imediatamente submetidos a hepatectomia parcial, sendo sacrificados 5 animais respectivamente a cada 12, 24, 48, 72 horas e 7 dias após o procedimento cirúrgico, para a colheita de amostras de sangue.

GRUPO 2 : - As 25 unidades experimentais deste grupo foram tratadas com solução de NaCl a 0,9 % , administrada por via intraperitoneal (i.p.), em volume equivalente aos tratamentos estabelecidos, durante 3 dias consecutivos, sendo que após a última administração os animais eram imediatamente submetidos a hepatectomia parcial, sendo sacrificados 5 animais respectivamente a cada 12, 24, 48, 72 horas e 7 dias após o procedimento cirúrgico , para a colheita de amostras de sangue.

GRUPO 3 : - As 25 unidades experimentais deste grupo foram tratadas com Cetoconazol*, preparado na forma farmacêutica de suspensão com 10 mg/ml, administrado por via intraperitoneal (i.p.), em dose única diária de 20 mg/Kg de peso, durante 3 dias consecutivos, sendo que após a última administração os animais eram imediatamente submetidos a falsa cirurgia, sendo sacrificados 5 animais respectivamente a cada 12, 24, 48, 72 horas e 7 dias após o procedimento cirúrgico, para a colheita de amostras de sangue.

GRUPO 4 : - As 25 unidades experimentais deste grupo foram tratadas com solução de NaCl a 0,9 % , administrado por via intraperitoneal (i.p.), em volume equivalente aos tratamentos estabelecidos, durante 3 dias consecutivos, sendo que após a última administração os animais eram imediatamente submetidos a falsa cirurgia, sendo sacrificados 5 animais respectivamente a cada 12, 24, 48, 72 e 7 dias após o procedimento cirúrgico, para a colheita de amostras de sangue.

GRUPO 5 : As 5 unidades experimentais deste grupo, não sofreram qualquer tipo de procedimento cirúrgico ou tratamento, sendo sacrificadas para a colheita de amostras de sangue.

* Cetoconazol : Fornecido pela importadora MASE - Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda, e preparado em suspensão com NaCl 0,9 % na concentração de 10 mg/ml, no momento da administração.

4.6. COLHEITA DE SANGUE PARA O DOSEAMENTO DAS AMINOTRANSFERASES

A análise química do sangue e de outros líquidos orgânicos necessita de uma atenção especial à colheita do espécime e ao seu processamento. Como o sangue se constitui no espécime que com maior frequência tem sido objeto de análise química, a exemplo deste trabalho experimental, a colheita, o processamento e a preparação do sangue antes da execução da análise, receberam atenção especial, visto que a validade dos resultados obtidos a partir deste espécime, dependeria em muito da excelência laboratorial, incluindo a manipulação dos equipamentos, utilização de reagentes de pureza especificada e controle ambiental assim como da técnica enzimática escolhida.

Após prévia anestesia dos animais com éter etílico, foram realizadas as coletas de sangue. Para tanto a cauda do animal era limpa com gaze embebida com álcool 70 GL e posteriormente com gaze umedecida contendo solução de NaCl 0,9%, logo após estes procedimentos a cauda do era secada com gaze.

Com uma lâmina afiada era realizada a secção do terço

inferior caudal do rato, desprezando-se as primeiras gotas de sangue que fluíam. Utilizando-se de um tubo de ensaio limpo e seco, sem anticoagulante deixava-se o sangue escorrer suavemente pelas paredes do tubo, até um valor mínimo estipulado em 3 ml de sangue total.

A colheita do sangue arterial e venoso misturados decorrente a utilização desta técnica, não interferiu na qualidade da amostra, uma vez que **SEKAS & COOK**, 1979, compararam esta condição em experimentos controlados, não encontrando nenhuma diferença significativa em 12 (doze) componentes séricos, inclusive as Aminotransferases, com relação a mistura sangue arterial/venoso em relação a sangue oriundo de punção cardíaca.

4.7. PREPARO DAS AMOSTRAS DE SANGUE

Para a obtenção do soro, utilizou-se a técnica de **MOURA et alii**, 1982, onde após colocar o sangue retirado em um tubo sem anticoagulante, conforme técnica já descrita anteriormente, deixou-se coagular espontaneamente. Isto requereu cerca de 15 minutos, com o sangue mantido a temperatura de 37°C em banho-maria.

O coágulo formado aderiu às paredes do tubo e era separado roçando-se apenas uma vez com uma vareta de vidro em toda a profundidade da amostra, pela periferia do tubo. A seguir, centrifugou-se a 2.500 rpm (Porta-centrifuge Tomy model IC-15AN, Tomy Seiko Co., LTD, Tokyo, Japan) durante 10 minutos.

Deixou-se coágulo retrair antes da centrifugação, para se obter um volume maior de soro assim como para evitar hemólise, sendo este um fenômeno não desejado, devido a sua importante interferência nas dosagens enzimáticas. A temperatura de 37°C foi escolhida por favorecer a obtenção de um volume maior de soro.

Uma vez centrifugado, com o coágulo sedimentado, o soro, era separado através de uma micropipeta para microtubos etiquetados com o código da respectiva amostra.

O soro então era mantido congelado, visto que nesta forma, a atividade enzimática se mantém inalterada por até 2 semanas (KARMEN, *et alii*, 1955).

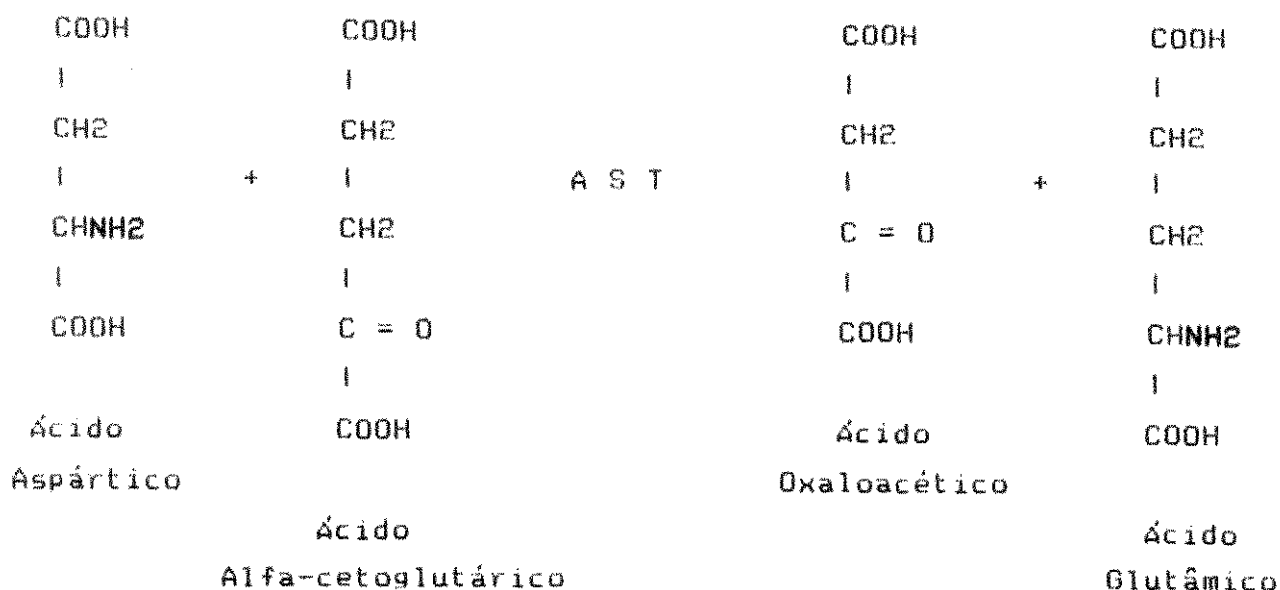
4.8. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DAS AMINOTRANSFERASES NO SORO.

2.3.1. Princípio.

As aminotransferases são enzimas derivadas da piridoxina (Vitamina B6), responsáveis pela transferência de radicais amino para o alfa-cetoglutarato na síntese de aminoácidos não essenciais, sendo que o protótipo dessas reações está esquematizado abaixo.



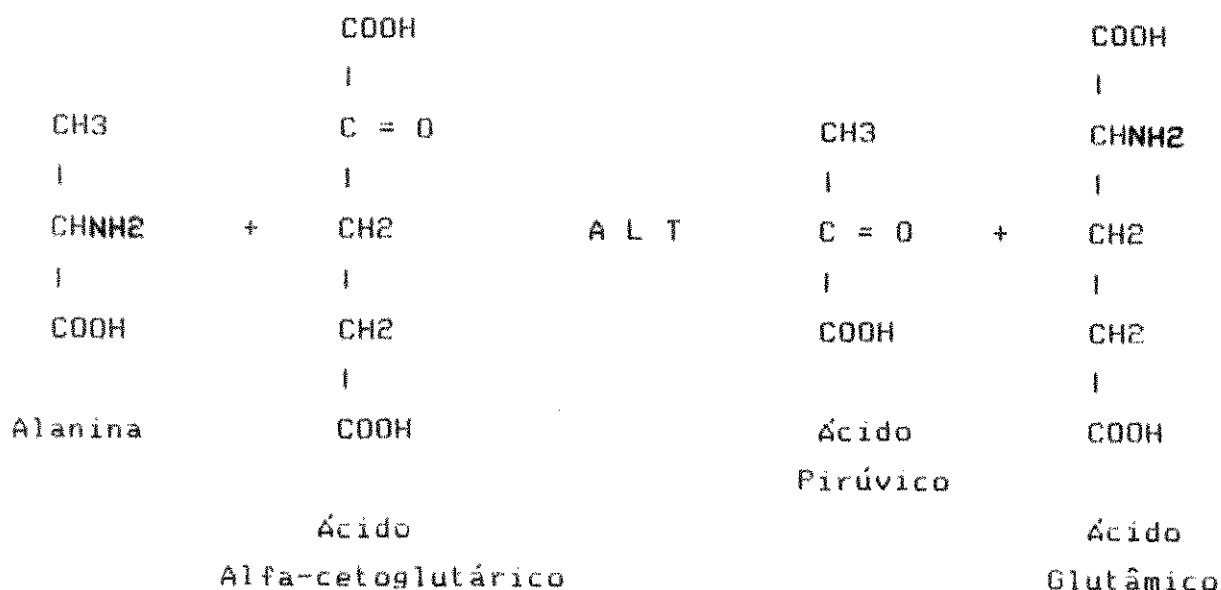
A Aspartato Aminotransferase (AST) catalisa a transferência do grupo amina do ácido aspártico para o ácido alfa-cetoglutarico, formando ácido oxaloacético e ácido glutâmico.



O produto formado, ácido oxaloacético pela ação da Aspartato Aminotransferase, vai se combinar com a 2-4 dinitrofenilhidrazina para formar 2-4 dinitrofenilhidrazona, onde a concentração de 2-4 dinitrofenilhidrazona formada será diretamente proporcional à intensidade da cor marrom formada em solução alcalina, sendo fotocolorimetricamente medida, com absorção máxima ocorrendo em comprimentos de onda a 505 nm.

Uma unidade de Aspartato Aminotransferase corresponde à quantidade de atividade enzimática em 1 ml de soro que faz baixar a absorbância 0,001 em 1 minuto, nas condições padronizadas (temperatura, pH ótimos e concentração do substrato).

A Alanina Aminotransferase (ALT) catalisa a transferência do grupo amino da alanina para o ácido alfa-cetoglutárico, formando ácido glutâmico e ácido pirúvico.



O produto formado, ácido pirúvico pela ação da Alanina Aminotransferase, vai se combinar com a 2-4 dinitrofenilhidrazina para formar a 2-4 dinitrofenilhidrazona, onde a concentração da 2-4 dinitrofenilhidrazona formada será diretamente proporcional à intensidade de cor formada em solução alcalina, sendo fotoclorimetricamente medida, com absorção máxima de leitura ocorrendo em comprimentos de onda a 505 nm.

Uma unidade de Alanina Aminotransferase corresponde à quantidade de atividade enzimática em 1 ml de soro que faz baixar a absorvância 0,001 em 1 minuto, em condições padronizadas (temperatura, pH ótimos e concentração do substrato).

4.9. CARACTERÍSTICAS DO SISTEMA

As reações enzimáticas ocorrem neste tipo de sistema

em 4 etapas distintas, e permitem que a fotometria seja realizada em qualquer colorímetro que tenha filtros de emissão entre 490 a 540 nm.

Os reagentes foram rigorosamente padronizados e estabilizados visando a manutenção de rígidas e ótimas condições para a ação enzimática.

4.10. SISTEMATIZAÇÃO DOS MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras eram acondicionadas em recipientes adequados de acordo com o grupo a que pertenciam, ao horário da coleta e com relação ao seu número como unidade experimental.

G1-12-1	:	Grupo experimental 1,	12 horas,	unidade experimental 1.
G1-12-2	:	"	"	"
G1-12-3	:	"	"	"
G1-12-4	:	"	"	"
G1-12-5	:	"	"	"

G1-24-1	:	Grupo experimental 1,	24 horas,	unidade experimental 1.
G1-24-2	:	"	"	"
G1-24-3	:	"	"	"
G1-24-4	:	"	"	"
G1-24-5	:	"	"	"

G1-48-1	:	Grupo experimental 1,	48 horas,	unidade experimental 1.
G1-48-2	:	"	"	"
G1-48-3	:	"	"	"
G1-48-4	:	"	"	"
G1-48-5	:	"	"	"

G1-72-1	:	Grupo experimental 1,	72 horas,	unidade experimental 1.	
G1-72-2	:	"	"	"	2
G1-72-3	:	"	"	"	3
G1-72-4	:	"	"	"	4
G1-72-5	:	"	"	"	5
G1-7*-1	:	Grupo experimental 1,	7*dias,	unidade experimental 1.	
G1-7*-2	:	"	"	"	2
G1-7*-3	:	"	"	"	3
G1-7*-4	:	"	"	"	4
G1-7*-5	:	"	"	"	5

Este código também foi utilizado para a identificação das demais amostras de sangue dos grupos de nº 2 ; nº 3 e nº 4.

Para o grupo de nº 5, que possuía apenas 5 unidades foi utilizado a seguinte identificação abaixo :

G5-1	:	Grupo experimental 5,	unidade experimental 1.
G5-2	:	"	2
G5-3	:	"	3
G5-4	:	"	4
G5-5	:	"	5

4.11. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise da atividade sérica das enzimas Aspartato e Alanina-aminotransferase, foram realizadas análises de variância inteiramente ao acaso, aplicando-se a transformação $\ln(x)$ [logaritmo Neperiano da atividade] aos dados, para homogeneizar a variância e teste de Tukey com nível de significância 5% (VIEIRA, 1989), para comparação das médias duas a duas nos diferentes intervalos de tempo em relação aos grupos experimentais.

5 - RESULTADOS

5 - RESULTADOS

5.1. RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA ASPARTATO-AMINOTRANSFERASE (AST) SÉRICA.

5.1.1. Análise comparativa dos 4 grupos experimentais, período por período em horas, em relação ao controle basal.

5.1.1.1. Após 12h da hepatectomia, da falsa cirurgia e em relação ao controle basal.

Os valores médios na dosagem da atividade da AST (U/ml) obtidos 12h após os respectivos procedimentos experimentais em cada grupo e no controle basal e os desvios padrões das médias estão expressos na tabela 1.

Tabela 1. Média dos valores transformados na determinação da atividade enzimática da Aspartato-aminotransferase (AST)/(U/ml) e desvio padrão (std) 12h após os respectivos procedimentos experimentais e controle basal.

GRUPO	MÉDIAS	n	std
1	6,230	5	0,3811
2	6,259	5	0,3116
3	3,353	5	0,2678
4	3,433	5	0,2242
5	3,024	5	0,2270

Os valores médios apresentados na tabela 1 foram obtidos a partir da transformação $\ln(x)$ (logaritmo Neperiano dos valores) das médias que constam nas tabelas 31, 32, 33, 34 e 39 do apêndice para efeito de análise dos dados na determinação da atividade enzimática da AST.

A tabela 2 mostra a análise de variância dos dados transformados.

Tabela 2 : Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativo aos dados da tabela 1.

Causas de variação	GL	SQ	QM	F*
Tratamento	4	53,549	13,387	160,971*
Resíduo	20	1,663	0,083	
Total	24	55,212		

GL = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; QM = quadrado médio

Observa-se que na tabela 2 há pelo menos uma diferença de média entre tratamentos estatisticamente significativa ao nível de 5%.

Para comparar as médias duas a duas foi realizado o Teste de Tukey = 5%.

Os resultados mostram que os valores obtidos na determinação da atividade enzimática da AST após 12h, incluindo o controle basal :

- No grupo 1 foram estatisticamente maiores em relação aos grupos 3, 4 e 5 ;
- No grupo 2 foram estatisticamente maiores que os obtidos nos grupos 3, 4 e 5 ;
- Que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos 1 e 2 ;
- Que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos 3, 4 e 5.

Tabela 3 - Teste de Tukey aplicado às médias dos valores transformados na determinação da atividade da AST 12 horas após a hepatectomia nos grupos 1, 2, 3, 4 e em relação ao grupo 5 após os respectivos procedimentos experimentais.

GRUPO	MÉDIAS	5%
1	6,230	a
2	6,259	a
3	3,353	b
4	3,433	b
5	3,024	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

D.M.S. = 0,544

Para ilustrar os resultados da tabela 1, foi construída a figura 1 que relaciona os valores médios transformados na determinação da atividade enzimática sérica da AST em função do período (h) decorrido após os respectivos procedimentos experimentais.

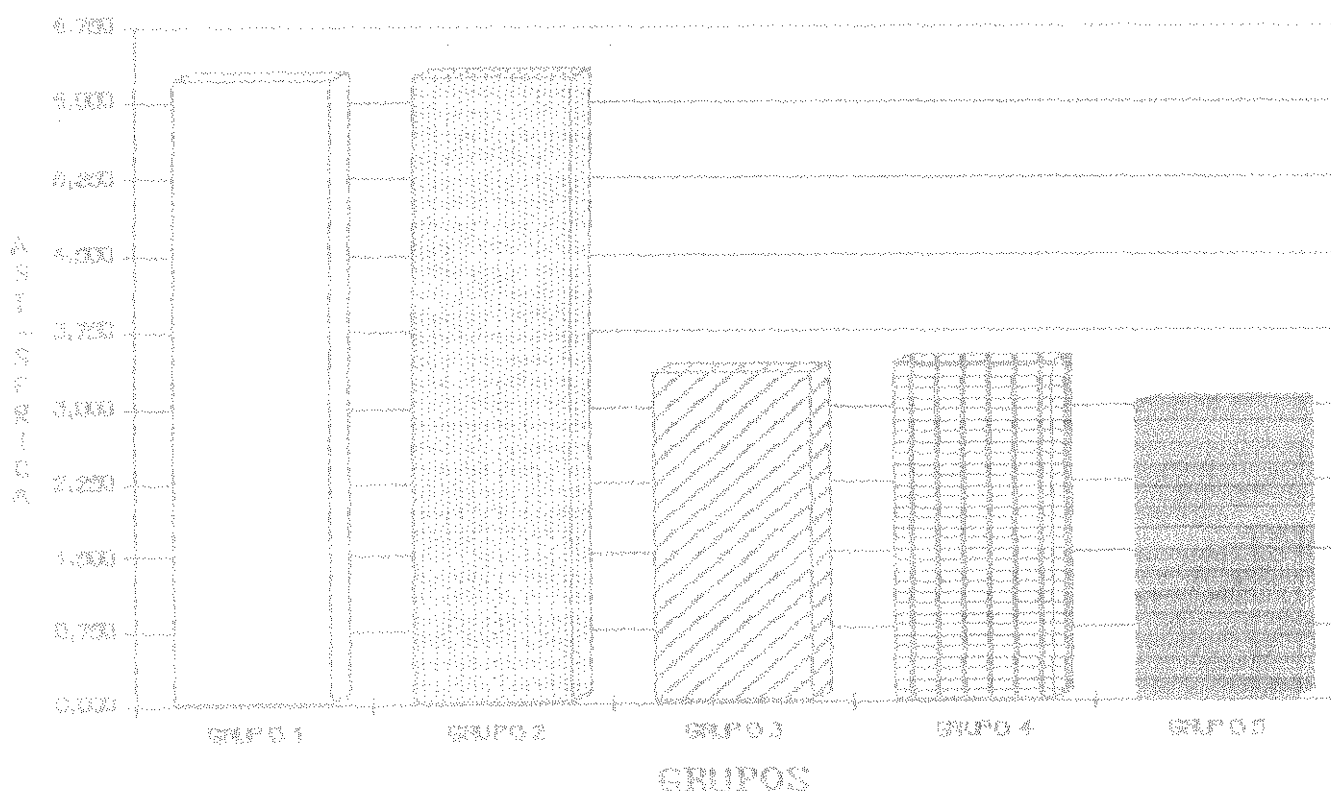


Figura 1 - Gráfico de barras relativo aos valores médios transformados na determinação da atividade enzimática sérica da AST 12h após diferentes grupos experimentais tratados com cetoconazol, NaCl 0,9% e controle basal.

5.1.1.2. Após 24h da hepatectomia, da falsa cirurgia e em relação ao controle basal.

Os valores médios na dosagem da atividade da AST (U/ml) obtidos 24h após os respectivos procedimentos experimentais em cada grupo e no controle basal e os desvios padrões das médias estão expressos na tabela 3.

Tabela 4. Média dos valores transformados na determinação da atividade enzimática da Aspartato-aminotransferase (AST)/(U/ml) e desvio padrão (std) 24h após os respectivos procedimentos experimentais e controle basal.

GRUPO	MÉDIA	n	std
1	6,629	5	0,3708
2	6,665	5	0,3128
3	3,223	5	0,3637
4	3,333	5	0,1285
5	3,024	5	0,2270

Os valores médios apresentados na tabela 4 foram obtidos a partir da transformação $\ln(x)$ (logarítmo Neperiano dos valores) das médias que constam nas tabelas 31, 32, 33, 34 e 39 do apêndice para efeito de análise dos dados na determinação da atividade enzimática da AST.

A tabela 5 mostra a análise de variância dos dados transformados.

Tabela 5 : Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativo aos dados da tabela 4.

Causas de variação	GL	SQ	QM	F*
Tratamento	4	71,819	17,955	206,080*
Resíduo	20	1,743	0,087	
Total	24	73,562		

GL = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; QM = quadrado médio

Observa-se que na tabela 5 há pelo menos uma diferença de média entre tratados estatisticamente significativa ao nível de 5%.

Para comparar as médias duas a duas foi realizado o Teste de Tukey = 5%.

Os resultados mostram que os valores obtidos na determinação da atividade enzimática da AST após 24h, incluindo o controle basal :

- a) No grupo 1 foram estatisticamente maiores em relação aos grupos 3, 4 e 5 ;
- b) No grupo 2 foram estatisticamente maiores que os obtidos nos grupos 3, 4 e 5 ;
- c) Que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos 1 e 2 ;
- d) Que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos 3, 4 e 5.

Tabela 6 - Teste de Tukey aplicado às médias dos valores transformados na determinação da atividade da AST 24 horas após a hepatectomia nos grupos 1, 2, 3, 4 e em relação ao grupo 5 após os respectivos procedimentos experimentais.

GRUPO	MÉDIAS	5%
1	6,629	a
2	6,665	a
3	3,223	b
4	3,333	b
5	3,024	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

D.M.S. = 0,557

Para ilustrar os resultados da tabela 4, foi construída a figura 2 que relaciona os valores médios transformados na determinação da atividade enzimática sérica da AST em função do período (h) decorrido após os respectivos procedimentos experimentais.

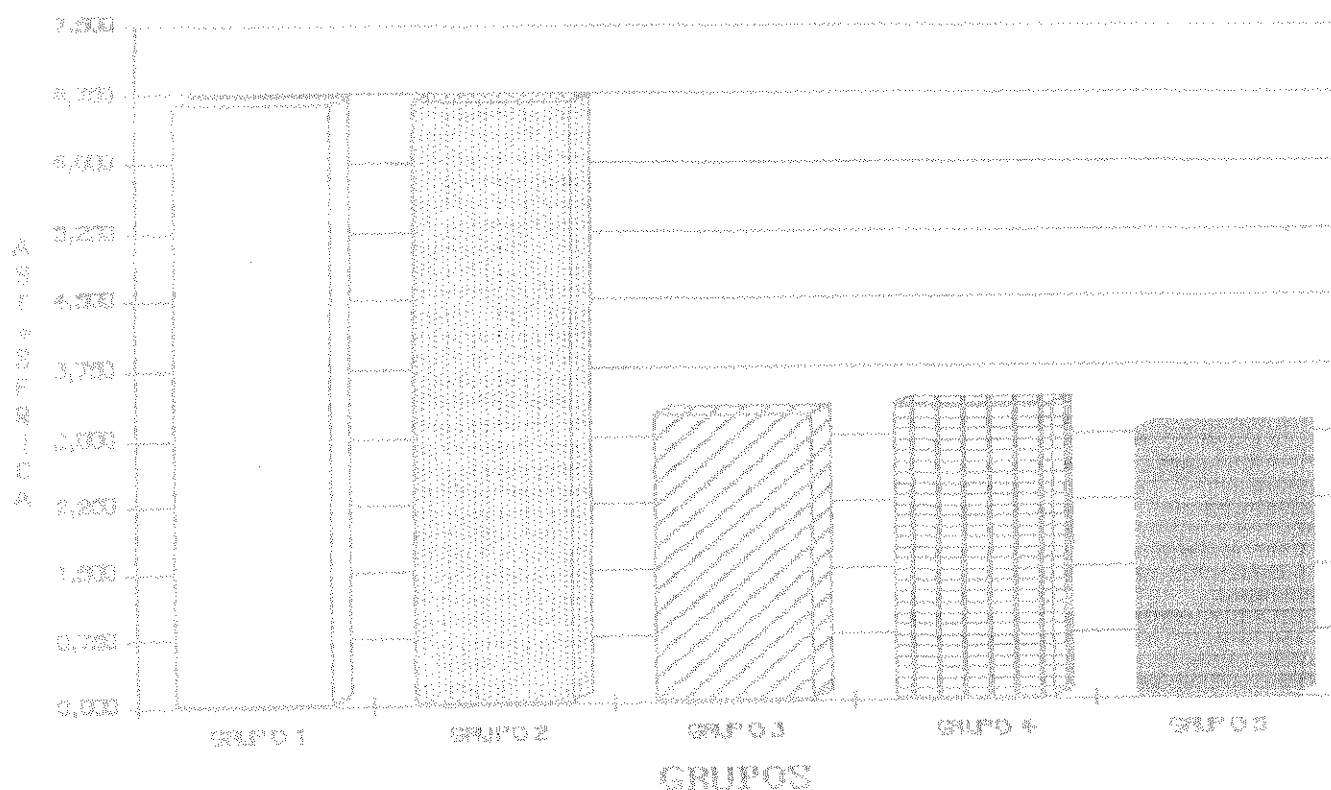


Figura 2 - Gráfico de barras relativo aos valores médios transformados na determinação da atividade enzimática sérica da AST 24h após diferentes grupos experimentais tratados com cetoconazol, NaCl 0,9% e controle basal.

5.1.1.3. Após 48h da hepatectomia, da falsa cirurgia e em relação ao controle basal.

Os valores médios na dosagem da atividade da AST (U/ml) obtidos 48h após os respectivos procedimentos experimentais em cada grupo e no controle basal e os desvios padrões das médias estão expressos na tabela 7.

Tabela 7. Média dos valores transformados na determinação da atividade enzimática da Aspartato-aminotransferase (AST)/(U/ml) e desvio padrão (std) 48h após os respectivos procedimentos experimentais e controle basal.

GRUPO	MÉDIA	n	std
1	5,783	4	0,1941
2	5,670	5	0,3130
3	3,412	5	0,1960
4	3,140	5	0,4079
5	3,024	5	0,2270

Os valores médios apresentados na tabela 5 foram obtidos a partir da transformação $\ln(x)$ (logaritmo Neperiano dos valores) das médias que constam nas tabelas 31, 32, 33, 34 e 39 do apêndice para efeito de análise dos dados na determinação da atividade enzimática da AST.

A tabela 8 mostra a análise de variância dos dados transformados.

Tabela 8 : Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativo aos dados da tabela 7.

Causas de variação	GL	SQ	QM	F*
Tratamento	4	36,378	9,094	112,909*
Resíduo	19	1,530	0,081	
Total	23	37,908		

GL = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; QM = quadrado médio

Observa-se que na tabela 8 há pelo menos uma diferença de média entre tratados estatisticamente significativa ao nível de 5%.

Para comparar as médias duas a duas foi realizado o Teste de Tukey = 5%.

Os resultados mostram que os valores obtidos na determinação da atividade enzimática da AST após 48h, incluindo o controle basal :

- No grupo 1 foram estatisticamente maiores em relação aos grupos 3, 4 e 5 ;
- No grupo 2 foram estatisticamente maiores que os obtidos nos grupos 3, 4 e 5 ;
- Que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos 1 e 2 ;
- Que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos 3, 4 e 5.

Tabela 9 - Teste de Tukey aplicado às médias dos valores transformados na determinação da atividade da AST 48 horas após a hepatectomia nos grupos 1, 2, 3, 4 e em relação ao grupo 5 após os respectivos procedimentos experimentais.

GRUPO	MÉDIAS	5%
1	5,783	a
2	5,670	a
3	3,412	b
4	3,140	b
5	3,024	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

D.M.S. = 0,537 (4 e 5)

D.M.S. = 0,506 (5 e 5)

Para ilustrar os resultados da tabela 7, foi construída a figura 3 que relaciona os valores médios transformados na determinação da atividade enzimática sérica da AST em função do período (h) decorrido após os respectivos procedimentos experimentais.

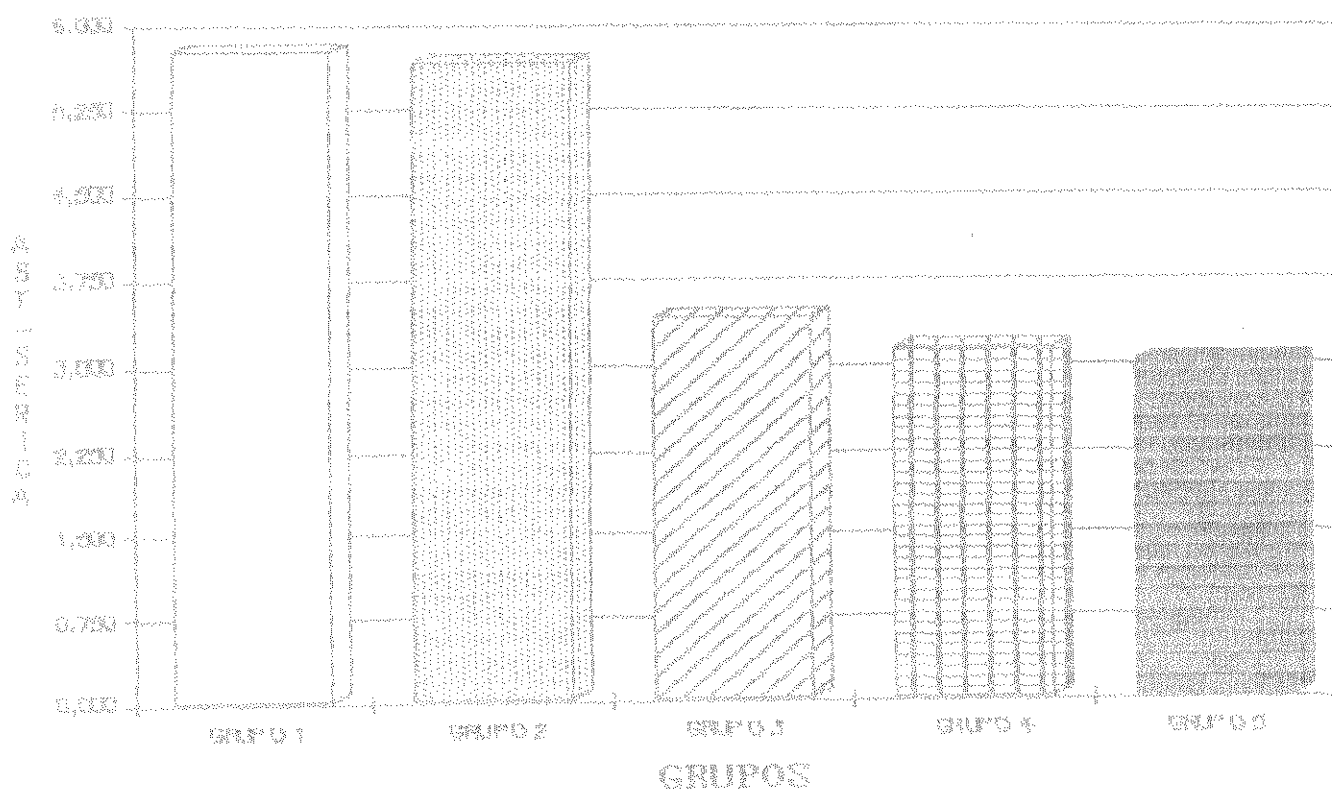


Figura 3 - Gráfico de barras relativo aos valores médios transformados na determinação da atividade enzimática sérica da AST 48h após diferentes grupos experimentais tratados com cetoconazol, NaCl 0,9% e controle basal.

5.1.1.4. Após 72h da hepatectomia, da falsa cirurgia e em relação ao controle basal.

Os valores médios na dosagem da atividade da AST (U/ml) obtidos 72h após os respectivos procedimentos experimentais em cada grupo e no controle basal e os desvios padrões das médias estão expressos na tabela 10.

Tabela 10. Média dos valores transformados na determinação da atividade enzimática da Aspartato-aminotransferase (AST)/(U/ml) e desvio padrão (std) 72h após os respectivos procedimentos experimentais e controle basal.

GRUPO	MÉDIA	n	std
1	4,500	5	0,3689
2	4,532	5	0,3194
3	3,311	5	0,1934
4	3,437	4	0,3329
5	3,024	5	0,2270

Os valores médios apresentados na tabela 10 foram obtidos a partir da transformação $\ln(x)$ (logaritmo Neperiano dos valores) das médias que constam nas tabelas 31, 32, 33, 34 e 39 do apêndice para efeito de análise dos dados na determinação da atividade enzimática da AST.

A tabela 11 mostra a análise de variância dos dados transformados.

Tabela 11 : Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativo aos dados da tabela 10.

Causas de variação	GL	SQ	QM	F*
Tratamento	4	9,843	2,461	28,499*
Resíduo	19	1,640	0,082	
Total	23	11,483		

GL = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; QM = quadrado médio

Observa-se que na tabela 11 que não houve diferença de média entre tratados estatisticamente significativa ao nível de 5%.

Para comparar as médias duas a duas foi realizado o Teste de Tukey = 5%.

Os resultados mostram que os valores obtidos na determinação da atividade enzimática da AST após 72h, incluindo o controle basal :

- a) No grupo 1 foram estatisticamente maiores em relação aos grupos 3, 4 e 5 ;
- b) No grupo 2 foram estatisticamente maiores que os obtidos nos grupos 3, 4 e 5 ;
- c) Que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos 1 e 2 ;
- d) Que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos 3, 4 e 5.

Tabela 12 - Teste de Tukey aplicado às médias dos valores transformados na determinação da atividade da AST 72 horas após a hepatectomia nos grupos 1, 2, 3, 4 e em relação ao grupo 5 após os respectivos procedimentos experimentais.

GRUPO	MÉDIAS	5%
1	4,500	a
2	4,532	a
3	3,311	b
4	3,437	b
5	3,024	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

D.M.S. = 0,553 (4 e 5)

D.M.S. = 0,521 (5 e 5)

Para ilustrar os resultados da tabela 10, foi construída a figura 4 que relaciona os valores médios transformados na determinação da atividade enzimática sérica da AST em função do período (h) decorrido após os respectivos procedimentos experimentais.

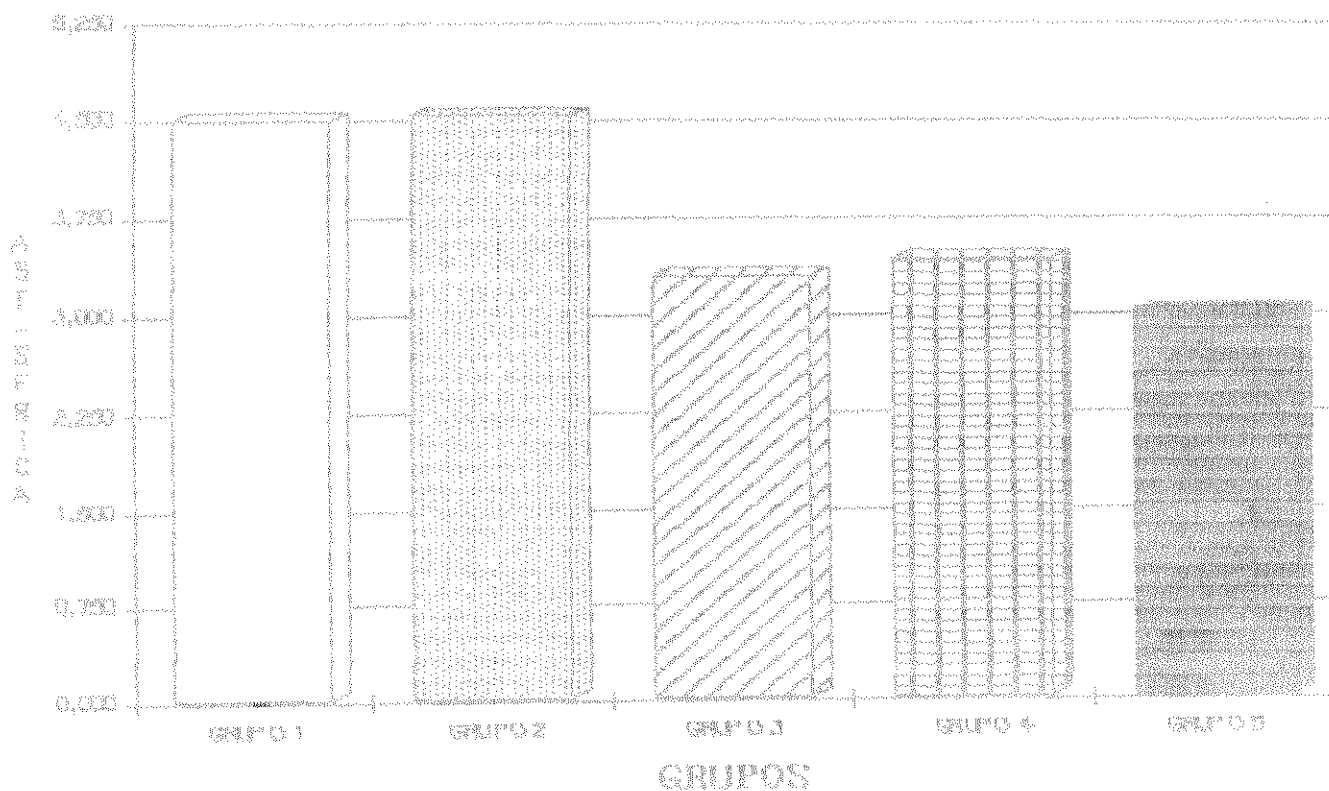


Figura 4 - Gráfico de barras relativo aos valores médios transformados na determinação da atividade enzimática sérica da AST 72h após diferentes grupos experimentais tratados com cetoconazol, NaCl 0,9% e controle basal.

5.1.1.5. Após 7 dias da hepatectomia, da falsa cirurgia e em relação ao controle basal.

Os valores médios na dosagem da atividade da AST (U/ml) obtidos 7 dias após os respectivos procedimentos experimentais em cada grupo e no controle basal e os desvios padrões das médias estão expressos na tabela 13.

Tabela 13. Média dos valores transformados na determinação da atividade enzimática da Aspartato-aminotransferase (AST)/(U/ml) e desvio padrão (std) 7 dias após os respectivos procedimentos experimentais e controle basal.

GRUPO	MÉDIA	n	std
1	4,108	5	0,3579
2	4,068	5	0,3612
3	3,191	5	0,3723
4	3,024	5	0,2226
5	3,024	5	0,2270

Os valores médios apresentados na tabela 13 foram obtidos a partir da transformação $\ln(x)$ (logaritmo Neperiano dos valores) das médias que constam nas tabelas 31, 32, 33, 34 e 39 do apêndice para efeito de análise dos dados na determinação da atividade enzimática da AST.

A tabela 14 mostra a análise de variância dos dados transformados.

Tabela 14 : Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativo aos dados da tabela 13.

Causas de variação	GL	SQ	QM	F*
Tratamento	4	6,201	1,550	15,558*
Resíduo	20	1,993	0,100	
Total	24	8,194		

GL = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; QM = quadrado médio

Observa-se que na tabela 13 que não houve diferença de média entre tratados estatisticamente significativa ao nível de 5%.

Para comparar as médias duas a duas foi realizado o Teste de Tukey = 5%.

Os resultados mostram que os valores obtidos na determinação da atividade enzimática da AST após 7 dias, incluindo o controle basal :

- a) No grupo 1 foram estatisticamente maiores em relação aos grupos 3, 4 e 5 ;
- b) No grupo 2 foram estatisticamente maiores que os obtidos nos grupos 3, 4 e 5 ;
- c) Que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos 1 e 2 ;
- d) Que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos 3, 4 e 5.

Tabela 15 - Teste de Tukey aplicado às médias dos valores transformados na determinação da atividade da AST 7 dias após a hepatectomia nos grupos 1, 2, 3, 4 e em relação ao grupo 5 após os respectivos procedimentos experimentais.

GRUPO	MÉDIAS	5%
1	4,108	a
2	4,068	a
3	3,191	b
4	3,024	b
5	3,024	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

D.M.S. = 0,598

Para ilustrar os resultados da tabela 13, foi construída a figura 5 que relaciona os valores médios transformados na determinação da atividade enzimática sérica da AST em função do período (h) decorrido após os respectivos procedimentos experimentais.

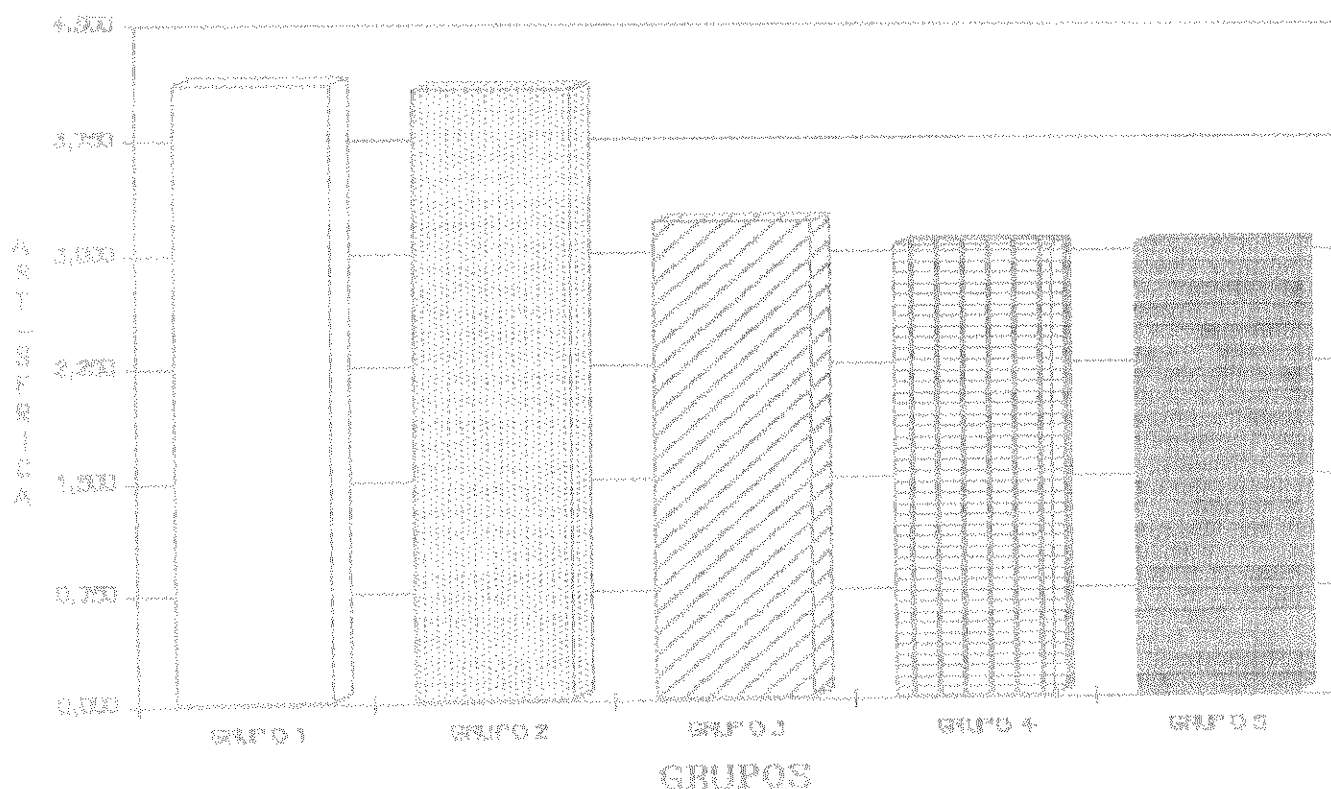


Figura 5 - Gráfico de barras relativo aos valores médios transformados na determinação da atividade enzimática sérica da AST 7 dias após diferentes grupos experimentais tratados com cetoconazol, NaCl 0,9% e controle basal.

5.2. RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA ALANINA-AMINOTRANSFERASE (ALT) SÉRICA.

5.2.1. Análise comparativa dos 4 grupos experimentais, período por período em horas, em relação ao controle basal.

5.2.1.1. Após 12h da hepatectomia, da falsa cirurgia e em relação ao controle basal.

Os valores médios na dosagem da atividade da ALT (U/ml) obtidos 12h após os respectivos procedimentos experimentais em cada grupo e no controle basal e os desvios padrões das médias estão expressos na tabela 16.

Tabela 16. Média dos valores transformados na determinação da atividade enzimática da Alanina-aminotransferase (ALT)/(U/ml) e desvio padrão (std) 12h após os respectivos procedimentos experimentais e controle basal.

GRUPO	MÉDIA	n	std
1	6,942	5	0,2808
2	6,938	5	0,2897
3	4,057	5	0,3390
4	4,038	5	0,2986
5	3,680	5	0,1469

Os valores médios apresentados na tabela 16 foram obtidos a partir da transformação $\ln(x)$ (logarítmo Neperiano dos valores) das médias que constam nas tabelas 35, 36, 37, 38 e 40 do apêndice para efeito de análise dos dados na determinação da atividade enzimática da ALT.

A tabela 17 mostra a análise de variância dos dados transformados.

Tabela 17 : Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativo aos dados da tabela 16.

Causas de variação	GL	SQ	QM	F*
Tratamento	4	54,990	13,747	176,952*
Resíduo	20	1,554	0,078	
Total	24	56,544		

GL = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; QM = quadrado médio

Observa-se que na tabela 17 há pelo menos uma diferença de média entre tratados estatisticamente significativa ao nível de 5%.

Para comparar as médias duas a duas foi realizado o Teste de Tukey = 5%.

Os resultados mostram que os valores obtidos na determinação da atividade enzimática da ALT após 12h, incluindo o controle basal :

- a) No grupo 1 foram estatisticamente maiores em relação aos grupos 3, 4 e 5 ;
- b) No grupo 2 foram estatisticamente maiores que os obtidos nos grupos 3, 4 e 5 ;
- c) Que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos 1 e 2 ;
- d) Que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos 3, 4 e 5.

Tabela 18 - Teste de Tukey aplicado às médias dos valores transformados na determinação da atividade da ALT 12 horas após a hepatectomia nos grupos 1, 2, 3, 4 e em relação ao grupo 5 após os respectivos procedimentos experimentais.

GRUPO	MÉDIAS	5X
1	6,942	a
2	6,938	a
3	4,057	b
4	4,038	b
5	3,680	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

D.M.S. = 0,528

Para ilustrar os resultados da tabela 16, foi construída a figura 6 que relaciona os valores médios transformados na determinação da atividade enzimática sérica da ALT em função do período (h) decorrido após os respectivos procedimentos experimentais.

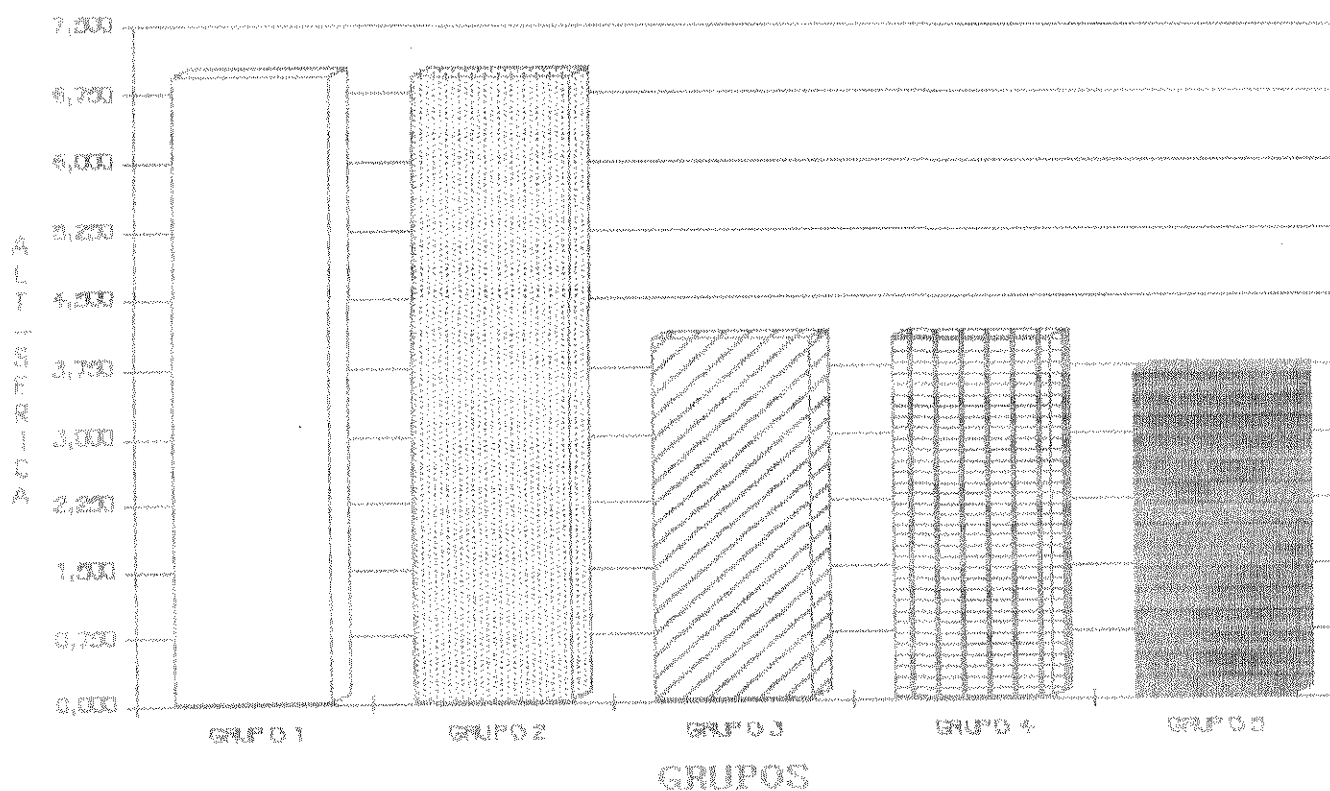


Figura 6 - Gráfico de barras relativo aos valores médios transformados na determinação da atividade enzimática sérica da ALT 12h após diferentes grupos experimentais tratados com cetoconazol, NaCl 0,9% e controle basal.

5.2.1.2. Após 24h da hepatectomia, da falsa cirurgia e em relação ao controle basal.

Os valores médios na dosagem da atividade da ALT (U/ml) obtidos 24h após os respectivos procedimentos experimentais em cada grupo e no controle basal e os desvios padrões das médias estão expressos na tabela 19.

Tabela 19. Média dos valores transformados na determinação da atividade enzimática da Alanina-aminotransferase (ALT)/(U/ml) e desvio padrão (std) 24h após os respectivos procedimentos experimentais e controle basal.

GRUPO	MÉDIA	n	std
1	6,096	5	0,2257
2	6,149	5	0,2894
3	4,254	5	0,3145
4	4,086	5	0,5193
5	3,680	5	0,1469

Os valores médios apresentados na tabela 19 foram obtidos a partir da transformação $\ln(x)$ (logarítmo Neperiano dos valores) das médias que constam nas tabelas 35, 36, 37, 38 e 40 do apêndice para efeito de análise dos dados na determinação da atividade enzimática da ALT.

A tabela 20 mostra a análise de variância dos dados transformados.

Tabela 20 : Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativo aos dados da tabela 19.

Causas de variação	GL	SQ	QM	F*
Tratamento	4	27,732	6,933	66,050*
Resíduo	20	2,099	0,105	
Total	24	29,832		

GL = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; QM = quadrado médio

Observa-se que na tabela 20 há pelo menos uma diferença de média entre tratados estatisticamente significativa ao nível de 5%.

Para comparar as médias duas a duas foi realizado o Teste de Tukey = 5%.

Os resultados mostram que os valores obtidos na determinação da atividade enzimática da ALT após 24h, incluindo o controle basal :

- a) No grupo 1 foram estatisticamente maiores em relação aos grupos 3, 4 e 5 ;
- b) No grupo 2 foram estatisticamente maiores que os obtidos nos grupos 3, 4 e 5 ;
- c) Que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos 1 e 2 ;
- d) Que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos 3, 4 e 5.

Tabela 21 - Teste de Tukey aplicado às médias dos valores transformados na determinação da atividade da ALT 24 horas após a hepatectomia nos grupos 1, 2, 3, 4 e em relação ao grupo 5 após os respectivos procedimentos experimentais.

GRUPO	MÉDIAS	5%
1	6,096	a
2	6,149	a
3	4,254	b
4	4,086	b
5	3,680	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

D.M.S. = 0,612

Para ilustrar os resultados da tabela 19, foi construída a figura 7 que relaciona os valores médios transformados na determinação da atividade enzimática sérica da ALT em função do período (h) decorrido após os respectivos procedimentos experimentais.

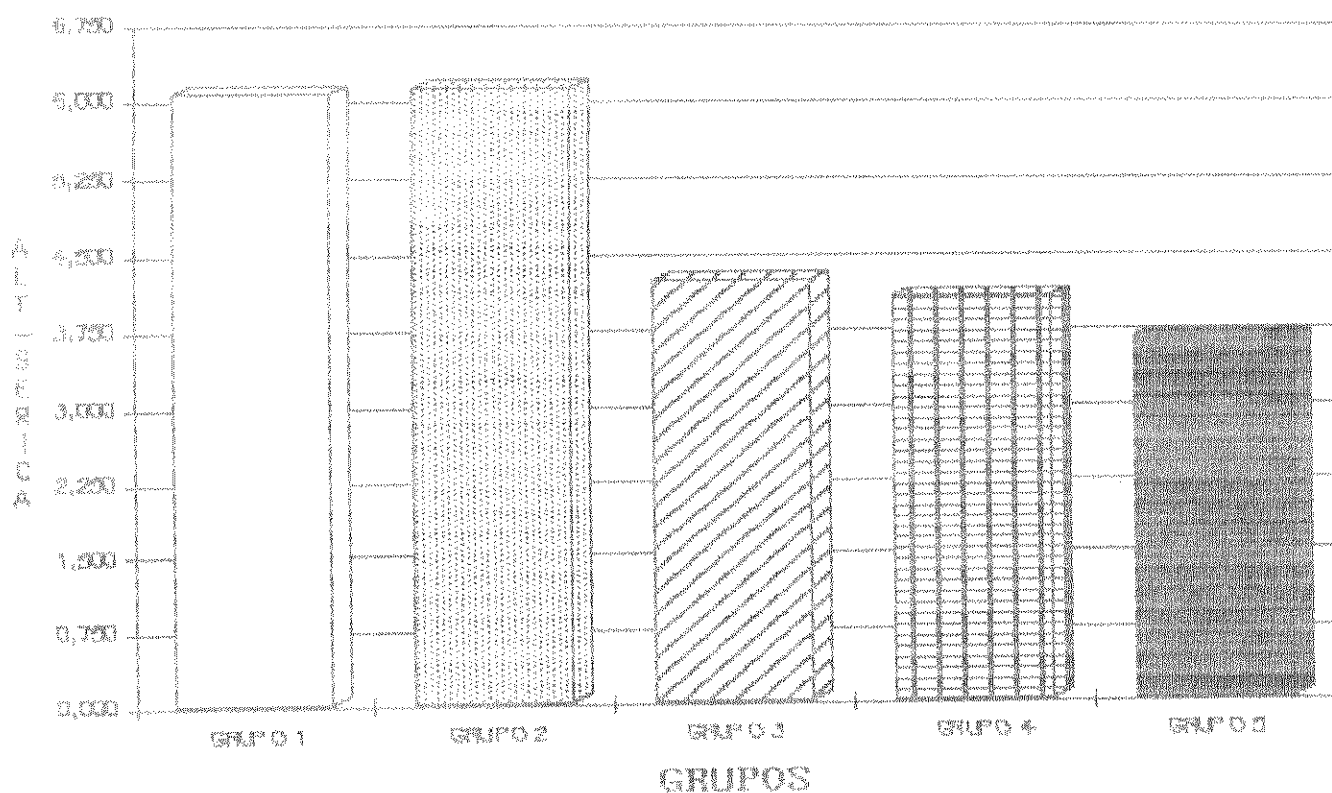


Figura 7 - Gráfico de barras relativo aos valores médios transformados na determinação da atividade enzimática sérica da ALT 24h após diferentes grupos experimentais tratados com cetoconazol, NaCl 0,9% e controle basal.

5.2.1.3. Após 48h da hepatectomia, da falsa cirurgia e em relação ao controle basal.

Os valores médios na dosagem da atividade da ALT (U/ml) obtidos 48h após os respectivos procedimentos experimentais em cada grupo e no controle basal e os desvios padrões das médias estão expressos na tabela 22.

Tabela 22. Média dos valores transformados na determinação da atividade enzimática da Alanina-aminotransferase (ALT)/(U/ml) e desvio padrão (std) 48h após os respectivos procedimentos experimentais e controle basal.

GRUPO	MÉDIA	n	std
1	4,935	4	0,0939
2	4,892	5	0,2925
3	3,878	5	0,5111
4	3,936	5	0,4138
5	3,680	5	0,1469

Os valores médios apresentados na tabela 22 foram obtidos a partir da transformação $\ln(x)$ (logaritmo Neperiano dos valores) das médias que constam nas tabelas 35, 36, 37, 38 e 40 do apêndice para efeito de análise dos dados na determinação da atividade enzimática da ALT.

A tabela 23 mostra a análise de variância dos dados transformados.

Tabela 23 : Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativo aos dados da tabela 22.

Causas de variação	GL	SQ	QM	F*
Tratamento	4	6,739	1,685	14,649*
Resíduo	19	2,185	0,115	
Total	23	8,924		

GL = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; QM = quadrado médio

Observa-se que na tabela 23 há pelo menos uma diferença de média entre tratados estatisticamente significativa ao nível de 5%.

Para comparar as médias duas a duas foi realizado o Teste de Tukey = 5%.

Os resultados mostram que os valores obtidos na determinação da atividade enzimática da ALT após 48h, incluindo o controle basal :

- a) No grupo 1 foram estatisticamente maiores em relação aos grupos 3, 4 e 5 ;
- b) No grupo 2 foram estatisticamente maiores que os obtidos nos grupos 3, 4 e 5 ;
- c) Que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos 1 e 2 ;
- d) Que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos 3, 4 e 5.

Tabela 24 - Teste de Tukey aplicado às médias dos valores transformados na determinação da atividade da ALT 48 horas após a hepatectomia nos grupos 1, 2, 3, 4 e em relação ao grupo 5 após os respectivos procedimentos experimentais.

GRUPO	MÉDIAS	5%
1	4,935	a
2	4,892	a
3	3,878	b
4	3,936	b
5	3,680	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

D.M.S. = 0,640 (4 e 5)

D.M.S. = 0,603 (5 e 5)

Para ilustrar os resultados da tabela 22, foi construída a figura 8 que relaciona os valores médios transformados na determinação da atividade enzimática sérica da ALT em função do período (h) decorrido após os respectivos procedimentos experimentais.

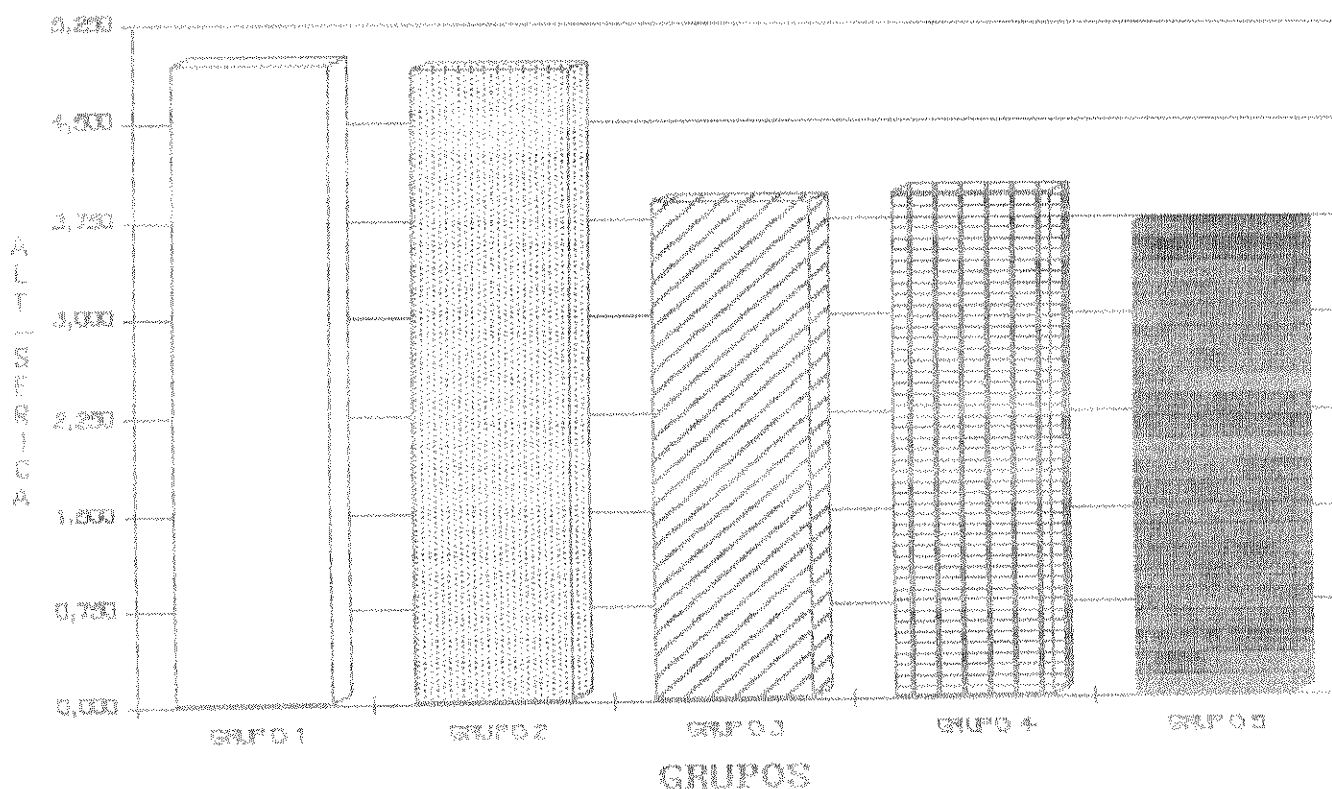


Figura 8 - Gráfico de barras relativo aos valores médios transformados na determinação da atividade enzimática sérica da ALT 48h após diferentes grupos experimentais tratados com cetoconazol, NaCl 0,9% e controle basal.

5.2.1.4. Após 72h da hepatectomia, da falsa cirurgia e em relação ao controle basal.

Os valores médios na dosagem da atividade da ALT (U/ml) obtidos 72h após os respectivos procedimentos experimentais em cada grupo e no controle basal e os desvios padrões das médias estão expressos na tabela 25.

Tabela 25. Média dos valores transformados na determinação da atividade enzimática da Alanina-aminotransferase (ALT)/(U/ml) e desvio padrão (std) 72h após os respectivos procedimentos experimentais e controle basal.

GRUPO	MÉDIA	n	std
1	3,705	5	0,2229
2	3,756	5	0,2919
3	4,125	5	0,3344
4	3,912	4	0,3996
5	3,680	5	0,1469

Os valores médios apresentados na tabela 25 foram obtidos a partir da transformação $\ln(x)$ (logaritmo Neperiano dos valores) das médias que constam nas tabelas 35, 36, 37, 38 e 40 do apêndice para efeito de análise dos dados na determinação da atividade enzimática da ALT.

A tabela 26 mostra a análise de variância dos dados transformados.

Tabela 26 : Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativo aos dados da tabela 25.

Causas de variação	GL	SQ	QM	F*
Tratamento	4	0,680	0,170	2,082*
Resíduo	19	1,552	0,082	
Total	23	2,232		

GL = graus de liberdade;

SQ = soma dos quadrados;

QM = quadrado médio

Observa-se que na tabela 26 não há diferença de média entre tratados estatisticamente significativa ao nível de 5%.

Para ilustrar os resultados da tabela 25, foi construída a figura 9 que relaciona os valores médios transformados na determinação da atividade enzimática sérica da ALT em função do período (h) decorrido após os respectivos procedimentos experimentais.

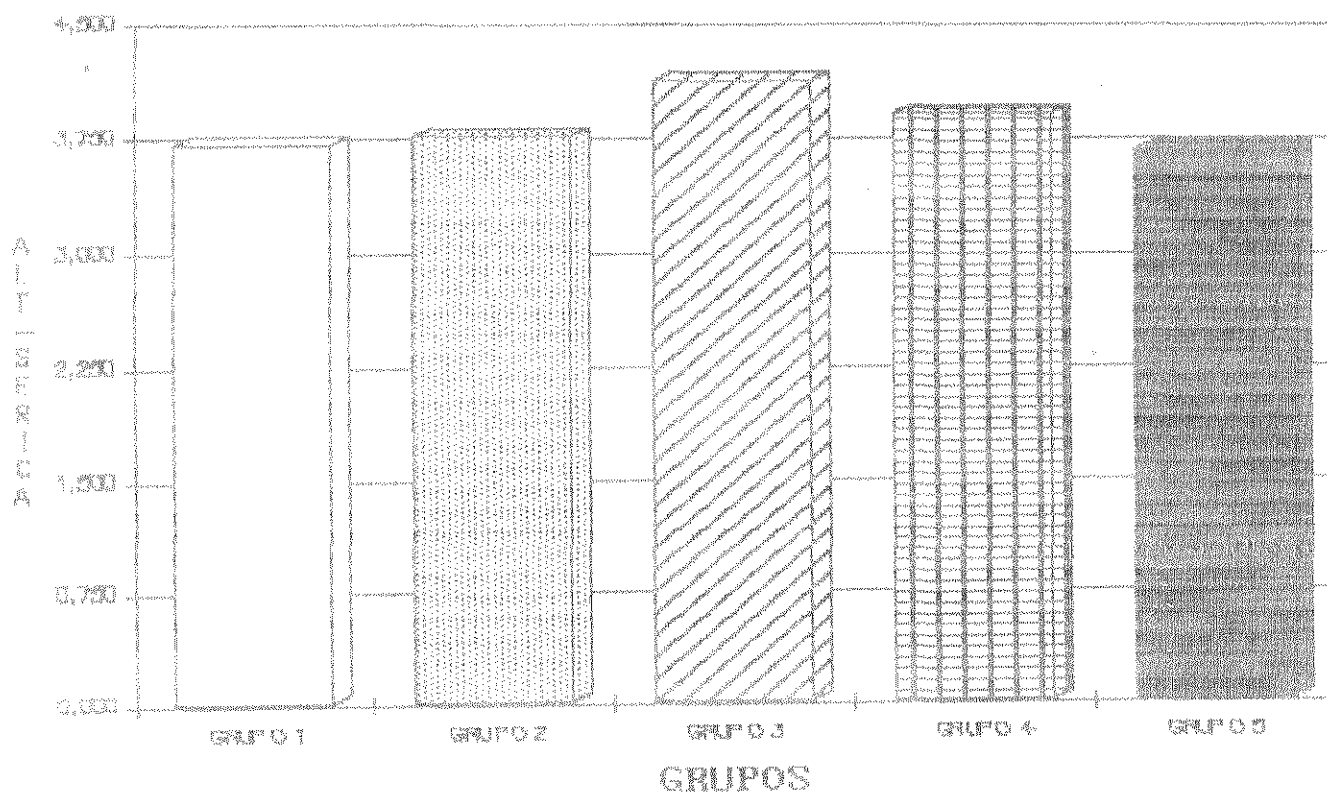


Figura 9 - Gráfico de barras relativo aos valores médios transformados na determinação da atividade enzimática sérica da ALT 72h após diferentes grupos experimentais tratados com cetoconazol, NaCl 0,9% e controle basal.

5.2.1.5. Após 7 dias da hepatectomia, da falsa cirurgia e em relação ao controle basal.

Os valores médios na dosagem da atividade da ALT (U/ml) obtidos 7 dias após os respectivos procedimentos experimentais em cada grupo e no controle basal e os desvios padrões das médias estão expressos na tabela 27.

Tabela 27. Média dos valores transformados na determinação da atividade enzimática da Alanina-aminotransferase (ALT)/(U/ml) e desvio padrão (std) 7 dias após os respectivos procedimentos experimentais e controle basal.

GRUPO	MÉDIA	n	std
1	3,683	5	0,1599
2	3,620	5	0,2366
3	3,851	5	0,3873
4	3,787	5	0,3848
5	3,680	5	0,1469

Os valores médios apresentados na tabela 27 foram obtidos a partir da transformação $\ln(x)$ (logarítmo Neperiano dos valores) das médias que constam nas tabelas 35, 36, 37, 38 e 40 do apêndice para efeito de análise dos dados na determinação da atividade enzimática da ALT.

A tabela 28 mostra a análise de variância dos dados transformados.

Tabela 28 : Análise de variância (inteiramente ao acaso) relativo aos dados da tabela 27.

Causas de variação	GL	SQ	QM	F*
Tratamento	4	0,172	0,043	0,535*
Resíduo	20	1,605	0,080	
Total	24	1,776		

GL = graus de liberdade;

SQ = soma dos quadrados;

QM = quadrado médio

Observa-se que na tabela 28 não há diferença de média entre tratados estatisticamente significativa ao nível de 5%.

Para ilustrar os resultados da tabela 27, foi construída a figura 10 que relaciona os valores médios transformados na determinação da atividade enzimática sérica da ALT em função do período (h) decorrido após os respectivos procedimentos experimentais.

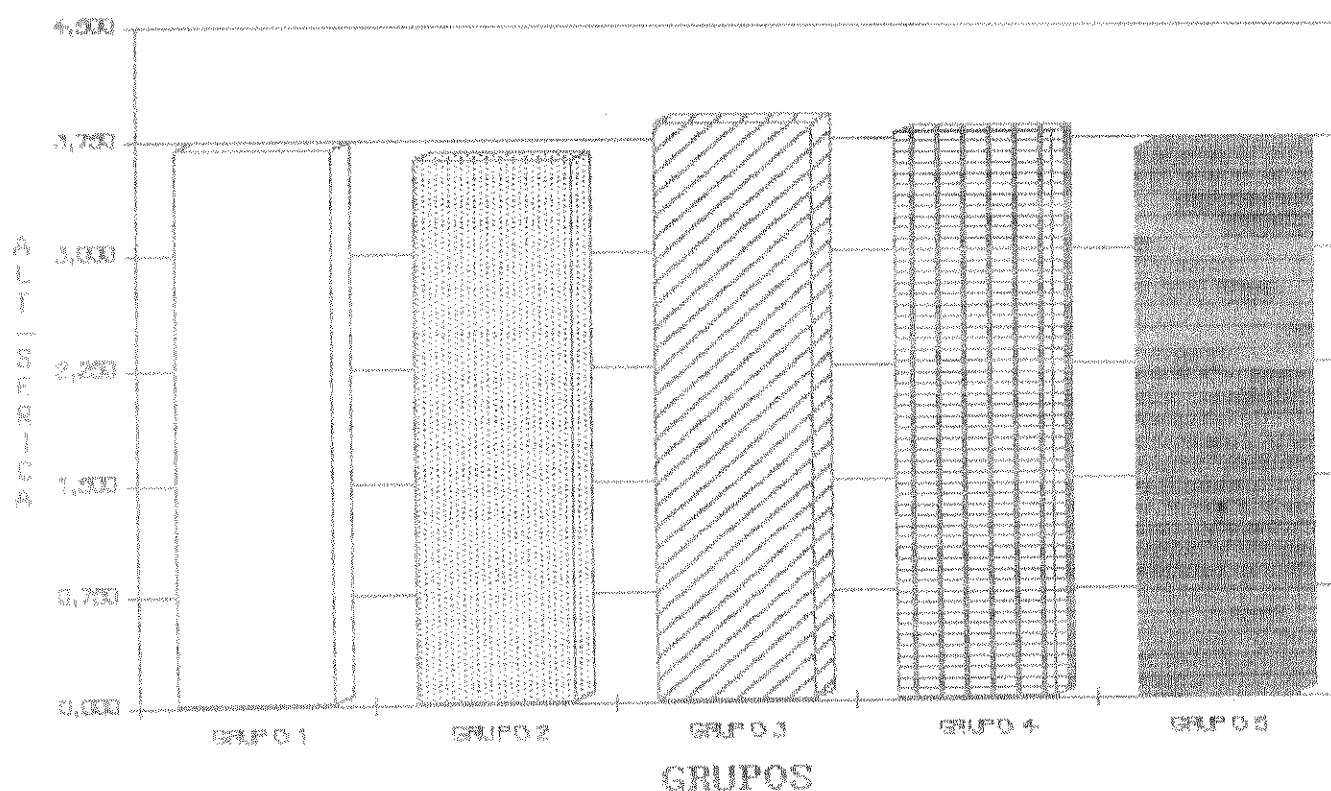


Figura 10 - Gráfico de barras relativo aos valores médios transformados na determinação da atividade enzimática sérica da ALT 7 dias após diferentes grupos experimentais tratados com cetoconazol, NaCl 0,9% e controle basal.

Tabela 29 - Média dos valores transformados na determinação sérica da atividade enzimática da Aspartato-aminotransferase (AST) / (U/ml), 12h, 24h, 48h, 72h e 7 dias após os respectivos procedimentos experimentais.

GRUPO	TEMPOS				
	12h	24h	48h	72h	7dias
1	6,230	6,629	5,783	4,500	4,108
2	6,259	6,665	5,670	4,532	4,068
3	3,353	3,223	3,412	3,311	3,191
4	3,433	3,333	3,140	3,437	3,024
5	3,024	3,024	3,024	3,024	3,024

Os valores médios apresentados na tabela 29 foram obtidos a partir da transformação $\ln(x)$ (logarítmo Neperiano dos valores) das médias que constam na tabela 41 do apêndice para efeito de análise dos dados na determinação da atividade enzimática da AST.

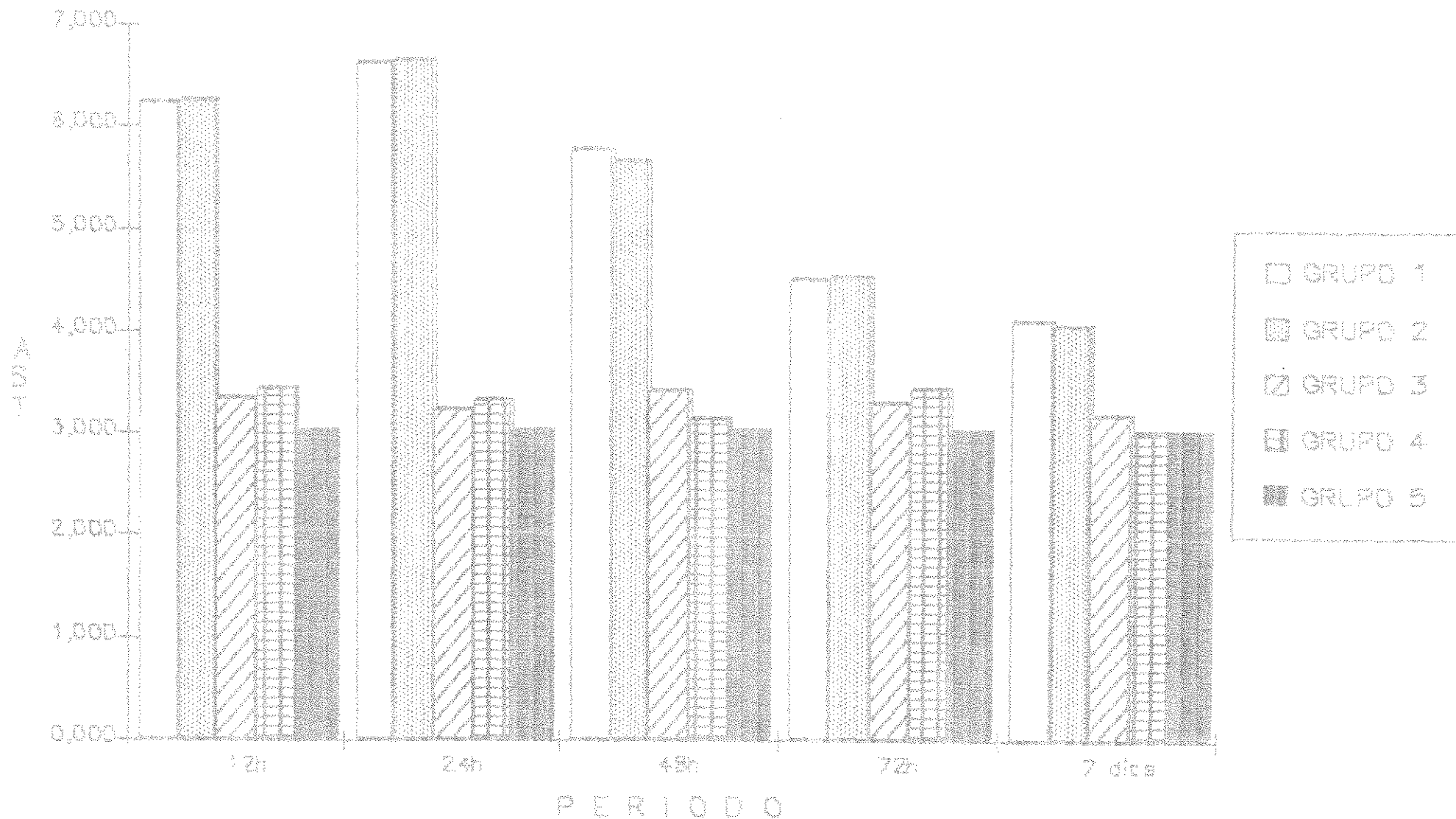


Figura 11 - Gráfico de barras relativo ao perfil enzimático da atividade sérica da Aspartato-amino-transferase (U/ml) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, 12h, 24h, 48h, 72h e 7 dias após hepatectomia parcial, falsa cirurgia, tratados previamente com Cetoconazol, solução de NaCl 0,9%, comparativamente ao controle basal.

Tabela 30 - Média dos valores transformados na determinação sérica da atividade enzimática da Alanina-aminotransferase (ALT) / (U/ml), 12h, 24h, 48h, 72h e 7 dias após os respectivos procedimentos experimentais.

GRUPO	TEMPOS				
	12h	24h	48h	72h	7dias
1	6,942	6,096	4,935	3,705	3,683
2	6,938	6,149	4,892	3,756	3,620
3	4,057	4,254	3,878	4,125	3,851
4	4,038	4,086	3,936	3,912	3,787
5	3,680	3,680	3,680	3,680	3,680

Os valores médios apresentados na tabela 30 foram obtidos a partir da transformação $\ln(x)$ (logarítmo Neperiano dos valores) das médias que constam na tabela 42 do apêndice para efeito de análise dos dados na determinação da atividade enzimática da ALT.

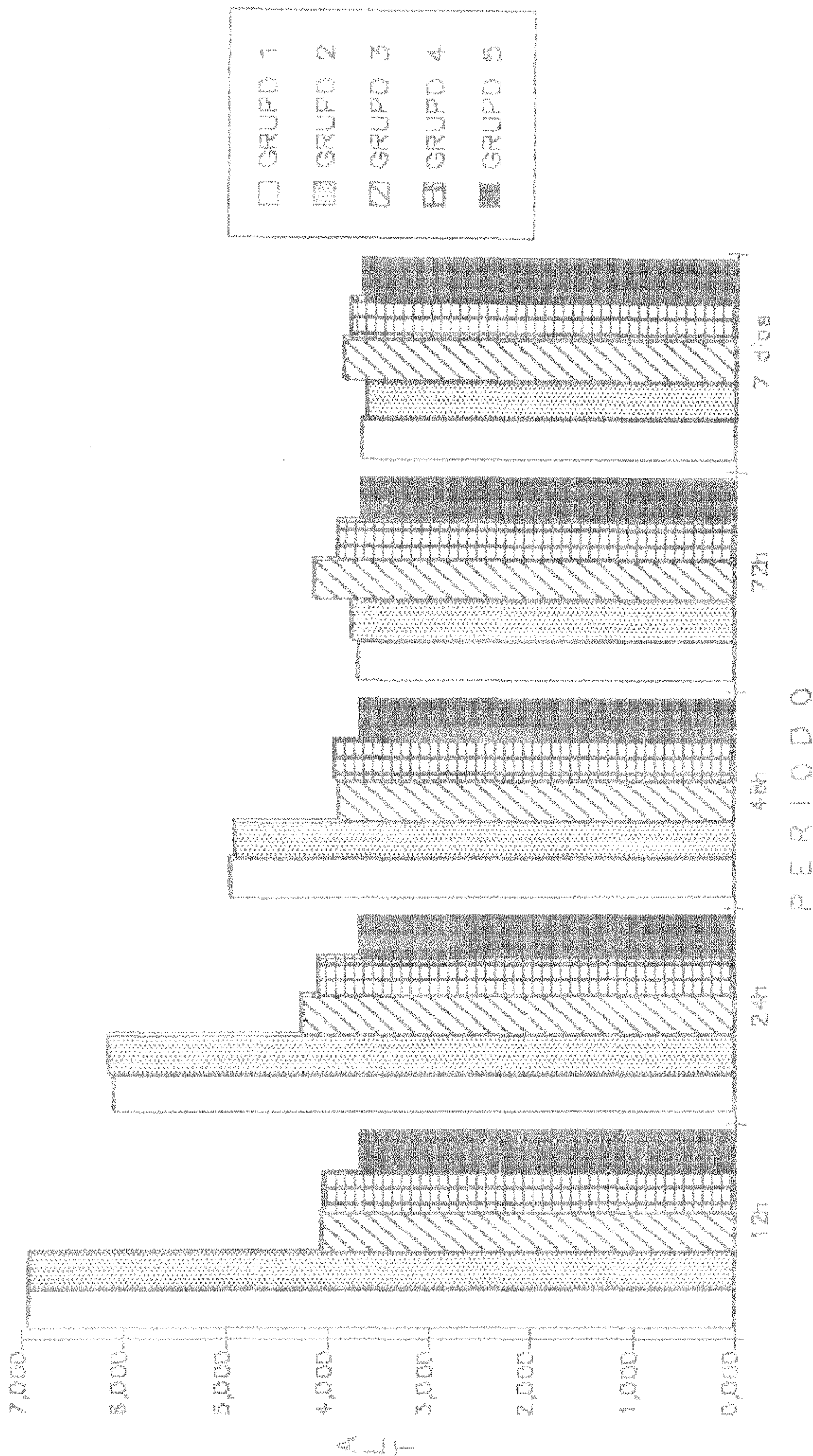


Figura 12 - Gráfico de barras relativo ao perfil enzimático da atividade sérica da Alanina-amino-transferase (U/ml) dos ratos dos diferentes grupos experimentais, 12h, 24h, 48h, 72h e 7 dias após hepatectomia parcial, falsa cirurgia, tratados previamente com Cetoconazol, solução de NaCl 0,9%, comparativamente ao controle basal.

6 - DISCUSSÃO

6 - DISCUSSÃO

A revisão da bibliografia sobre o Cetoconazol, um derivado imidazólico de 2ª geração, nos forneceu um grande número de trabalhos de cunho clínico, envolvendo a etiologia, diagnóstico e tratamento de diferentes formas de infecção oral que tinham em comum a *Cândida albicans*.

Durante os últimos anos, os fungos tornaram-se crescentemente reconhecidos como agentes etiológicos muito importantes de infecções superficiais, subcutâneas e sistêmicas que, com frequência, ultimamente têm se mostrado como doenças desfigurantes, debilitantes ou ameaçadoras para a vida.

Os aumentos dramáticos dos imunodeprimidos ou debilitados pela síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS), dos processos de transplante de órgãos, de diabetes e neoplasias, induziram os clínicos tanto da área médica como da odontológica a suspeitar que mesmo os fungos saprófitas mais comuns poderiam ser patógenos em potencial quando em pacientes susceptíveis.

Dentro deste quadro a Candidíase ou Monilíase oral se apresenta primariamente como uma infecção leveduriforme causada pela *C. albicans*, e o fato de se constituir como uma das mais comuns infecções fúngicas orais não surpreende, visto que mais de 50% dos adultos normais e saudáveis apresentam esta levedura como componente normal da microflora intra-oral (ARENDORF & WALKER, 1980).

Na revisão da bibliografia, pudemos constatar que as linhas de defesa orgânica do hospedeiro contra a invasão da *C. albicans*, dar-se-ia, em primeiro plano, graças a um epitélio intacto da mucosa oral; em segundo, à proliferação e descamação permanente e

constante desta mucosa; e em terceiro, à imunidade humoral e celular do organismo humano (IACOPINO & WHATEN, 1992).

Na bibliografia, pode-se notar que a cavidade oral está susceptível a múltiplas formas de alterações patológicas oriundas de sua própria microflora assim como de outros locais como o trato gastrointestinal, sendo que várias destas alterações são passíveis de tratamento com abordagem farmacológica.

Aspecto semiológico relacionado ao paciente e que tem despertado interesse, seria a possível história com terapia medicamentosa, pois interações entre as drogas estão se tornando cada vez mais prevalentes devido ao grande número de prescrições realizadas e ao número excessivo de fármacos disponíveis, comercializados sem a necessidade de receituário médico ou odontológico. Neste estudo específico, tal prática demonstrou singular importância visto as inúmeras interações do cetoconazol, um inibidor das enzimas microsossomais hepáticas com outros medicamentos, na vigência de terapia antifúngica com esta droga (NIEMEGERS *et alii*, 1981 ; SHEETS *et alii*, 1984 ; BROWN *et alii*, 1985 ; MOSCA *et alii*, 1985 ; HIGASHI *et alii*, 1987 ; RODRIGUES *et alii*, 1987 ; FIRST *et alii*, 1991).

Uma vez diagnosticada clinicamente a Candidíase oral, várias opções de tratamento estão disponíveis, sejam elas farmacológicas ou não farmacológicas, cada uma delas tendo graus de eficácia variáveis, assim como vantagens e desvantagens, devendo o clínico ter sempre em mente a possibilidade, da ocorrência de efeitos colaterais.

O reconhecimento de reações medicamentosas adversas comprometendo o fígado atingiu o ponto no qual, atualmente esperam-se reações hepáticas de quase todos os novos medicamentos. Embora muitas destas constituam pequena preocupação para o clínico,

algumas reações medicamentosas são tão graves que podem conduzir à insuficiência hepática e morte do paciente.

Das inúmeras drogas disponíveis para o tratamento da Monilíase oral relatadas na literatura, o cetoconazol nos chamou a atenção em decorrência de sua origem, história, usos terapêuticos e principalmente em relação aos possíveis efeitos deletérios sobre a função hepática em pacientes tratados com este medicamento.

O presente experimento foi motivado pela inexistência de trabalhos experimentais estudando o comportamento das enzimas aminotransferases plasmáticas em animais parcialmente hepatectomizados e submetidos a tratamento agudo com Cetoconazol.

Utilizamos a metodologia de dosagem das aminotransferases, que segundo ZIMMERMAN (1974) tem mantido uma inequívoca relação entre a experimentação científica e o desenvolvimento clínico, através de testes enzimáticos para o reconhecimento de alterações funcionais e estruturais hepáticas, oriundas de agressões físicas, químicas ou biológicas traduzidas pelo fenômeno de hepatotoxicidade.

Através da utilização do modelo experimental que se encontra no trabalho de HIGGINS e ANDERSON (1931) foi possível estabelecermos um plano de estudo, o qual resultou no trabalho aqui apresentado.

Os animais utilizados foram divididos em 5 grupos, sendo que 4 destes sofreram processos cirúrgicos distintos após tratamento prévio com o Cetoconazol ou solução de NaCl 0,9%, e um 1 grupo que não sofreu qualquer tipo de intervenção cirúrgica ou tratamento.

Segundo ZIEVE *et alii* (1985) embora este procedimento

também seja chamado de hepatectomia 70% ou hepatectomia de 2/3 da massa hepática, a remoção desses lóbulos envolve uma quantidade variável de tecidos de fígado de rato, onde os valores percentuais neste tipo de procedimento cirúrgico podem variar nas unidades experimentais entre 66% e 78% da massa hepática retirada.

O levantamento da literatura revelou importantes estudos sobre as alterações intracelulares que ocorrem no fígado de ratos após hepatectomia parcial (SEKAS & COOK, 1979 ; ZIEVE *et alii*, 1985) , correlacionando os níveis de aminotransferases. Porém, esta mesma literatura tem fornecido poucas informações sobre o efeito da hepatectomia parcial sobre as concentrações séricas dessas enzimas hepáticas, quando sob a ação concomitante de drogas.

A remoção de lóbulos hepáticos envolve entre outros procedimentos, a colocação de amarraduras para prevenir o sangramento, do remanescente hepático (lóbulo mediano e lateral esquerdo) deixando as porções residuais de fígado externamente à amarradura cirúrgica.

Uma porção de tecido remanescente do lóbulo mediano e lateral esquerdo se necrosam, em função da desvascularização, induzido pela ligadura, e as enzimas presentes nesta porção de tecido vão sendo liberadas gradativamente na cavidade peritoneal onde posteriormente serão absorvidas, originando concentrações plasmáticas compatíveis e relacionados com a extensão do trauma cirúrgico em função da unidade de tempo (SEKAS & COOK, 1979 e ZIEVE *et alii*, 1984).

Estudos relacionando a presença das Aminotransferases no plasma após trauma cirúrgico induzido pela hepatectomia parcial, há muito tempo vêm sendo realizados, e mostram que existe um padrão no qual as enzimas intracelulares hepáticas são liberadas para a circulação. As enzimas citoplasmáticas aumentam no sangue dentro de

algumas horas, para mais tardiamente aparecerem as enzimas de origem mitocondrial (MORITZ & SNODGRASS, 1972).

Os parâmetros utilizados para nossa avaliação, prendem-se à atividade sérica de enzimas hepáticas, após trauma cirúrgico em animais submetidos a tratamento prévio medicamentoso, visto que a dosagem de tais enzimas, tem sido o principal parâmetro utilizado por diversos autores na monitorização de possíveis alterações induzidas a nível hepático (LIMA *et alii*, 1985 ; RAPHAEL, 1986; HENRY, 1989 ; KAMOUN *et alii*, 1989).

Inúmeros trabalhos têm relatado elevações transitórias das aminotransferases em pacientes tratados com o cetoconazol (HANIFIN, 1982 ; GRAYBIIL & GRAVEN, 1983 ; JONES, 1984 ; LEWIS *et alii*, 1984 e VAN TYLE, 1984), porém estes níveis elevados segundo HANIFIN (1982) e JONES (1984) não estariam associados com sintomas sugestivos de hepatite, apesar desses autores sugerirem dosagens periódicas destas enzimas quando da instituição de tratamento medicamentoso por este antifúngico, como uma medida preventiva no diagnóstico precoce de possíveis danos hepáticos.

Apesar de dados estatísticos relacionando a taxa de alterações hepáticas sintomáticas induzidas pelo cetoconazol serem otimistas, com 1:10.000 pacientes tratados (JANSSEN & SYMOENS, 1983), 1:15:000 pacientes tratados (BOUGHTON, 1983), achados em estudos mais recentes como o de STRICKER *et alii* (1986) são discordantes no que diz respeito a ocorrência de tais reações, onde a incidência estimada foi de 1:2.000, sendo, inclusive, provavelmente mais alta.

Porém, quadros de hepatite sintomática causada pelo cetoconazol encontram-se amplamente descritos na literatura mundial, sendo caracterizada como doença icterica, febre, fadiga, fraqueza, anorexia, náuseas e vômitos (JONES, 1984 ; JANSSEN & SYMOENS, 1983 ;

BOUGHTON, 1983 ; HANIFIN, 1982 ; G. LAKE-BAKAAR *et alii*, 1987 ; MARTINDALLE, 1991 ; STRICKER *et alii*, 1986 ; DUARTE, 1984 ; VILELA *et alii*, 1989).

A abordagem em nosso trabalho, no tratamento agudo com o cetoconazol, um inibidor enzimático, se baseou no experimento de KANASHIMA *et alii* (1983) que utilizando um outro inibidor enzimático, a cimetidina, um potente antagonista dos receptores H₂ da histamina e que tem sido utilizado clinicamente no combate a complicações pós-cirúrgicas como úlceras hemorrágicas de stress, observou que a atividade sérica das aminotransferases apresentaram um aumento significativo nas primeiras 24 horas após a exposição prévia a esta droga em ratos parcialmente hepatectomizados, sendo que tanto a alanina-aminotransferase, como a aspartato-aminotransferase demonstraram o mesmo comportamento em tempo e sequência nos eventos enzimáticos séricos, sugerindo prováveis efeitos deletérios sobre o fígado em regeneração.

A obtenção da dose utilizada, 20 mg/kg/dia, no presente estudo foi feita em função das observações de vários autores (OKUMURA *et alii*, 1983, LEWIS *et alii*, 1984, ; MOSCA *et alii*, 1985 ; STRICKER *et alii*, 1986 e G. LAKER-BAKAAR *et alii*, 1987), na qual correlacionaram a alta atividade enzimática das aminotransferases séricas em consequência da lesão dos hepatócitos por um metabólito tóxico oriundo do cetoconazol, que provocaria alterações na permeabilidade das membranas celulares das células hepáticas pelo fenômeno de idiosincrasia metabólica, e cuja característica independeria da dose.

Em função do aspecto abordado acima, resolvemos adotar uma dose que em modelos animais com candidíase induzida, apresentasse 100% de eficácia na remissão dos mais variados quadros candidiais, e que foram obtidos de trabalhos *in vivo* (VAN-CUTSEM & JANSSEN, 1984 ; VAN CUTSEM & VAN DERVEN, 1986).

Pelo fato de metabólitos do cetoconazol surgirem através de extensa biotransformação hepática, com a oxidação e degradação dos grupos imidazólicos e piperazínicos, oriundas das reações bioquímicas de O-desalquilação oxidativa e hidroxilação aromática (DANESHMEND & WARNOCK, 1983), e a partir de achados que sugerirem anormalidades morfológicas e funcionais deste órgão induzidas por esta droga, e que segundo vários autores seriam decorrentes da produção de um metabólito tóxico (OKUMURA *et alii*, 1983 ; LEWIS *et alii*, 1984 ; MOSCA *et alii*, 1985 ; STRICKER *et alii*, 1986 e G. LAKE-BAKAAR *et alii*, 1987), conduzimos o experimento de tal maneira, que o tratamento com o cetoconazol previamente à hepatectomia parcial, objetivou manter esta singular via farmacocinética íntegra funcionalmente, para presumivelmente analisarmos a formação de produtos de metabolismo (hepatotoxinas?) e suas repercursões sobre o tecido hepático em posteriormente em regeneração.

O cetoconazol apesar de ser um derivado imidazólico de uso exclusivamente oral, foi utilizado em nosso trabalho por via intraperitoneal em função do menor estresse causado por esta via ao animal, e por esta via se apresentar tão eficaz quanto a via oral como mostra o trabalho de MOSCA *et alii* (1985).

Observando-se as médias relativas aos grupos 1 e 2, figura 11, na dosagem da atividade da aspartato-aminotransferase sérica, notou-se que o pico de concentração plásmática máxima ocorreu 24 horas após o procedimento cirúrgico, confirmando achados na literatura como de SEKAS & COOK (1979) e KANASHIMA *et alii* (1983).

Já observando-se as médias dos resultados relativos aos grupos 1 e 2, figura 12, na dosagem da atividade da alanina-aminotransferase sérica, nota-se que o pico de concentração plasmática máxima ocorreu nas primeiras 12 horas após a hepatectomia, o que confirma achados da literatura como de ZIEVE *et*

alii (1985) sendo que enzimaticamente seria consequência da liberação destas enzimas intracelulares do tecido remanescente após a hepatectomia (SEKAS & COOK, 1979), devido à necrose tecidual oriunda da desvascularização, resultante do aumento da permeabilidade das membranas citoplasmáticas das células e organelas dos hepatócitos (ZIMMERMAN, 1974). A diferença cronológica entre o pico máximo alcançado pela alanina-aminotransferase em relação a aspartato-aminotransferase, decorreria desta última estar presente em dois locais distintos da célula hepática, citoplasma e mitocôndrias, onde sua liberação dar-se-ia dentro de uma sequência na qual, inicialmente somente as localizadas a nível citoplasmático ganhariam o espaço peritoneal para mais tardiamente surgirem as enzimas de origem mitocondrial, enquanto que a enzima Alanina-aminotransferase teria como sítio de liberação apenas o citoplasma (ZIMMERMAN, 1974 e SEKAS & COOK, 1979).

Pelo fato do Cetoconazol, segundo a literatura, simular muitas síndromes clínicas, como lesão citotóxica (lesão inequívoca dos hepatócitos), lesão colestática (interrupção do fluxo biliar) ou lesões mistas (manifestações simultâneas de lesões citotóxicas e colestática), sendo estas alterações semelhantes à hepatite viral, onde em tais quadros segundo LEWIS & ZIMMERMAN (1989) os níveis de atividade das aminotransferases geralmente variam entre 8-500 vezes acima dos níveis normais, procuramos avaliar a possível interferência desta droga no comportamento de enzimas do tecido hepático em regeneração.

Nas tabelas 3, 6, 9, 12 e 15 que também relaciona os animais hepatectomizados que foram tratados com o cetoconazol com aqueles que receberam salina, também não encontramos diferenças nos níveis de atividade sérica estatisticamente significante ao nível de 5% nas 12h, 24h, 48h, 72h e 7 dias a nível de aspartato-aminotransferase, sugerindo não haver interferência a nível de atividade plasmática desta enzima, oriunda do fígado parcialmente hepatectomizado.

Nas tabelas 18, 21, 24, 26 e 28 relacionando os animais hepatectomizados e que foram tratados com cetoconazol, com aqueles que receberam apenas salina, não encontramos níveis de atividade das aminotransferases séricas estatisticamente significante ao nível de 5% nas 12h, 24h, 48h, 72h e 7 dias a nível de alanina-aminotransferase, sugerindo que não houve interferência a nível de atividade plasmática desta enzima, oriunda do fígado hepatectomizado (lóbulo residual), em regeneração..

É interessante ressaltar a grande variância nos valores da atividade sérica da alanina-aminotransferase de acordo com a tabela 33 e 36 do apêndice, nos animais hepatectomizados tratados com o Cetoconazol e salina, respectivamente dentro das primeiras 12 e 24 horas. Tal resultado é compatível com achados de ZIEVE *et alii* (1985) o qual relacionou a atividade sérica destas enzimas em animais parcialmente hepatectomizados, concluindo que quanto maior a quantidade de fígado remanescente desvascularizado maior é a atividade enzimática detectada no plasma, sugerindo que a excelência neste procedimento cirúrgico estaria intimamente relacionada aos valores enzimáticos sanguíneos, nas primeiras horas após a hepatectomia parcial.

O mesmo comportamento foi observado em relação aos valores da atividade sérica, da aspartato-aminotransferase de acordo com as tabelas 31 e 32 do apêndice, sugerindo também que tal fato ocorreu em decorrência do trauma cirúrgico.

Apesar da alanina-aminotransferase ser uma enzima, primariamente utilizada para o diagnóstico de hepatopatias, observamos através da literatura, que a sua alta atividade não ocorre somente a nível do citoplasma dos hepatócitos, sendo observada nos rins, músculo estriado e coração (KING, 1968), motivo este que nos levou a realizar grupos controle através do procedimento de falsa cirurgia, para avaliarmos possíveis interferências decorrentes desta

cirurgia (incisão ventral mediana com extrusão dos lóbulos hepáticos e sutura em primeiro plano da musculatura e em segundo plano da pele).

Através das tabelas 18, 21, 24, 26 e 28 observamos que não houve diferença estatisticamente significativa ao nível de 5% entre o grupo basal e os da falsa cirurgia, em nenhum dos horários estudados, indicando, que tal procedimento (falsa cirurgia) não repercutiu em níveis adicionais de alanina-aminotransferase sanguínea.

Nossa atenção foi maior com relação a aspartato-aminotransferase, visto que esta enzima possui também alta atividade a nível de musculatura estriada esquelética, coração, rins, pâncreas (KING, 1968), além do fígado.

As tabelas 3, 6, 9, 12 e 15 mostraram, através de análise estatística, que não houve um incremento significativo entre o grupo basal e os grupos da falsa cirurgia tratados e com salina nos níveis desta enzima em nenhum dos horários estudados, revelando que tal procedimento, não repercutiu nos níveis de atividade sanguínea além dos relacionados pelas enzimas oriundas após a hepatectomia parcial.

É importante destacar que procuramos na literatura, trabalhos que ressaltassem efeitos tóxicos do cetoconazol envolvendo outros tecidos, e que eventualmente poderiam estar associados com o metabolismo aminotransaminásico, além do fígado. Porém nada encontramos, o que nos certificou da fidelidade de resultados obtidos como sendo exclusivamente da interação do cetoconazol-fígado-enzimas.

Olhando as tabelas 3, 6, 9, 12 e 15, com relação à atividade da aspartato-aminotransferase, observamos que em todos os tempos estudados, ocorreu diferença estatisticamente significativa ao nível de 5% tanto entre os animais parcialmente hepatectomizados,

tratados com cetoconazol, como com os que solução de NaCl 0,9%, quando comparados aos animais da falsa cirurgia tratados com cetoconazol e solução de NaCl 0,9% e o grupo basal. O que nos fez concluir que os níveis enzimáticos alterados nos animais hepatectomizados se mostraram mais prolongados durante os tempos estudados, não alcançando em tais medidas a linha de base enzimática em relação ao controle basal como a observada com a alanina-aminotransferase após 72h da cirurgia de ressecção hepática.

Comparando os animais hepatectomizados, tanto tratados com o cetoconazol como os com solução de NaCl 0,9% em relação aos grupos da falsa cirurgia tratados com o cetoconazol e solução de NaCl 0,9%, mais o grupo basal, com relação a atividade da alanina-aminotransferase, nas tabelas 18, 21, e 24, observamos uma diferença estatisticamente significativa ao nível de 5% entre os animais parcialmente hepatectomizados e os demais grupos (falsa cirurgia e controle basal), o que nos leva a concluir que o processo de hepatectomia gerou níveis enzimáticos superiores em relação a estes grupos, no tempo de 12h (pico), 24 (declínio do pico) e 48 horas.

Ainda analisando os grupos hepatectomizados em relação aos demais, na análise da atividade desta aminotransferase nas tabelas 26 e 28, observamos que não houve diferenças estatisticamente significativa ao nível de 5% entre os animais parcialmente hepatectomizados e os da falsa cirurgia e controle basal, nos períodos de 72h em diante.

Esta queda nos níveis enzimáticos tanto no animal hepatectomizado tratado com cetoconazol e o com salina, é concordante com o trabalho de ZIEVE *et alii* (1985) onde o valor da alanina-aminotransferase em animais parcialmente hepatectomizados aproxima-se da linha de base 72h após tal procedimento cirúrgico.

7 - CONCLUSÕES

7 - CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos nesse trabalho e com as nossas condições experimentais, podemos concluir que :

1. O cetoconazol administrado em três doses únicas diárias de 20 mg/Kg, não altera a atividade sérica da AST em ratos parcialmente hepatectomizados, quando comparado a animais controle que receberam NaCl 0,9%.

2. O cetoconazol administrado em três doses únicas diárias de 20 mg/Kg, não altera a atividade sérica da ALT em ratos parcialmente hepatectomizados, quando comparado a animais controle que receberam NaCl 0,9%.

B - RESUMO

8 - RESUMO

O propósito do presente trabalho foi o de avaliar a influência do pré-tratamento com o fármaco antifúngico Cetoconazol, sobre o perfil de atividade enzimática da aspartato-aminotransferase (AST) e alanina-aminotransferase (ALT) em ratos parcialmente hepatectomizados. Para tanto, foram utilizados 105 ratos (*Rattus norvegicus* albinos, Wistar), machos, com 120 dias de idade, divididos em 5 grupos :

Grupo 1, os 25 animais foram previamente tratados com Cetoconazol na dose de 20 mg/Kg/dia (i.p.), durante 3 dias, imediatamente após a última administração hepatectomia parcial ; Grupo 2, os 25 animais foram previamente tratados com solução de NaCl 0,9% em volume equivalente ao Grupo 1, durante 3 dias, imediatamente a última administração hepatectomia parcial ; Grupo 3, os 25 animais foram tratados previamente com Cetoconazol na dose de 20 mg/Kg/dia (i.p.), durante 3 dias, imediatamente após a última administração falsa cirurgia ; Grupo 4, os 25 animais foram tratados previamente com solução de NaCl 0.9% em volume equivalente ao grupo 3, durante 3 dias, imediatamente a última administração falsa cirurgia e Grupo 5, com 5 animais, que não receberam qualquer tratamento medicamentoso ou cirúrgico. Foi medida a atividade enzimática da Aspartato-aminotransferase (AST) e Alanina-aminotransferase (ALT) no soro dos animais pertencentes aos grupos de nº 1, 2, 3 e 4 em intervalos de tempo 12h, 24h, 48h, 72h e 7 dias, sendo que para o Grupo 5 não houve cronometragem.

Os resultados obtidos mostraram que este antifúngico derivado imidazólico, não induziu a alterações séricas que fossem estatisticamente significantes (5%) nos níveis de atividade enzimática da AST e da ALT em ratos parcialmente hepatectomizados nos tempos estudados. Sugerindo que o Cetoconazol no esquema experimental utilizado, não exerceria alterações bioquímicas deletérias a nível de hepatócitos.

9 - SUMMARY

9 - SUMMARY

This paper is intended to evaluate the influence of the pre-treatment with pharmaco antifungus ketoconazole about the profile of enzymatic of the asparate-aminotransferase (AST) and alanine-aminotransferase (ALT) in rats partially hepatectomized. For this purpose 105 rats (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) were utilized, male, 120 days old, divided into 5 groups.

1st group, the animals were previously treated with ketoconazole on a dosage of 20 mg/Kg/day (i.p.), during three days, soon after the last partial hepatectomy administration; 2nd group, the 25 animals were previously treated with 0,9% NaCl solution on an equivalent volume as the one the 1st group, during three days, soon after the last partial hepatectomy administration; 3rd group, the 25 animals were previously treated with ketoconazole on a dosage 20 mg/Kg/day (i.p.) during three days, soon after the last sham operation administration; 4th group, the 25 animals were previously treated with a 0,9% NaCl solution on an equivalent volume of the 3rd group during three days, soon after the sham operation administration and 5th group with 5 animals, wich didn't receive any treatment either medicamental or surgical. The enzymatic activity of the asparate-aminotransferase and alanine-aminotranferase was measured in the serum of the animals belonging to the 1st, 2nd, 3rd and 4th groups in the interval of time of 12h, 24h, 48h, 72h and 7 days, there being no timing for the 5th group.

The results obtained show that this derivate antifungus imidazolic didn't induce to serum alterations which could statistically be significant (5%) in the levels of enzymatic activity of AST and ALT in rats partially hepatectomized in the studied times. Suggesting that ketoconazole in the experimental utilized scheme, wouldn't exercise noxious biochemical alterations on hepatocyte level.

10 - REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS

10 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, C.M. Diagnosing and Managing Oral Candidiasis. J.A.D.A., 123: 77-82, 1992.
- ARENDORF, T.M. ; WALKER, D.M. The prevalence and intraoral distribution of *Candida albicans* in man. Arch. Oral Biol., 15: 1-10, 1980.
- BENHAMOU, J.P. Hepatotoxicity of Drugs. 1st ed., Rouen, Univesity de Rouen, 1986, p. 23-30.
- BORGERS, M. Oral Therapy in Vaginal Candidosis. 1st ed., Oxford, The Medicine Publishing Foundation, 1984, p. 43-49.
- _____ ; VAN DEN BOSSCHE, H. ; DE BRABANDER, M. The mechanism of the action of the new antimycotic ketoconazole. Americ. J. Med., 74 (1b): 2-8, 1983.
- BOUGHTON, K. Ketoconazole and hepatic reactions. South African Med. J., 63: 955-9, 1983.
- BROWN, M.W. ; *et alii*. Effect of ketoconazole on hepatic oxidative drug metabolism. Clin. Pharmacol. Ther., 37: 290-7, 1985.
- BRYGOO, E.R. & COURDURIER, J. Comportment des levedures du genre *Candida* en présence de diverses substances colorantes. Ann. Inst. Pasteur, 89: 692-713, 1955.

- BUDTZ-JORGENSEN, E. Oral mucosal lesions associated with the wearing of removable dentures. J. Oral Pathol., 10: 65-71, 1981.
- _____ ; STENDERUP, A. ; GABROWSKI, M. An epidemiologic study of yeasts in elderly denture wearers. Comun Dent. Oral Epidemiol., 3: 115-122, 1975.
- BURNETT, G.W. ; SCHERP, H.W. ; SCHUSTER, G.S. Microbiologia Oral e Doencas Infecciosas. 4ª ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1978, p. 138-147.
- CAWENBERGH, G. ; *et alii*. Ketoconazole treatment in neonati and infants. 21st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Chicago, nov. 4-6, 1981.
- CRISLIP, M.A. & EDWARDS, J.E. Candidíase. Cli. Doencas Infecc. Am. Norte, 1: 102-132, 1989.
- CURTIS S.J., MORITZ, M. ; SNODGRASS, P.J. Serum enzymes derived from liver cell fractions: the response to carbon tetrachloride intoxication in rats. Gastroenterology, 62: 84-9, 1972.
- DANESHMEND, T.K. & WARNOCK, D.W. Clinical pharmacokinetics of systemic antifungal drugs. Clinical Pharmacokinetics, 8: 17-42, 1983.
- DUARTE, P.A. ; *et alii*. Fatal hepatitis associated with ketoconazole therapy. Arch. Inter. Med., 144: 1069-1070, 1984.
- EASTWOOD, H.O.H. Causes of jaundice in the elderly: a survey of diagnosis and investigation. Geront. Clin., 2: 13-69, 1971.

- ELIN, R.J. ; EDELIN, J.B. ; WOLFF, S.M. Infection and immunoglobulin concentrations in Chediak-Higashi mice. Infect. Immun., 10: 88-93, 1974.
- FAICH, G.A. ; *et alii*. National adverse drug reaction surveillance. J.A.M.A., 257: 2.068-2070, 1987.
- FANZIO, R.A. ; WICKREMESINGHE, P.C. ; ARSURA, F.L. Ketoconazole treatment of *Candida* esophagitis. Am. J. Gastroenterology, 78: 261-264, 1983.
- FIRST, M.R. ; *et alii*. Cyclosporine dose reduction by ketoconazole administration in renal transplant recipients. Transplantation, 51: 365-370, 1991.
- FAUSTO, N. & MEAD, J. Regulation of liver growth: protooncogenes and transforming growth factors. Lab. Invest., 60: 4-13, 1989.
- GRAYBILL, J.R. & CRAVEN, P.C. Antifungal agents used systemic mycoses. Activity and therapeutic use. Drugs, 25: 41-62, 1983.
- GRISHAM, J.W. Morphologic study of deoxyribonucleic acid synthesis and cell proliferation: in regenerating rat liver: autoradiography with thymidine H³. Cancer Res., 22: 842-850, 1962.
- HANIFIN, J.M. Ketoconazole in the management of fungal disease. 1^o ed., Sydney, Adis Press, 1982, p. 156-159.
- HARPER, H.A. Manual de Química Fisiológica. 5^o ed., São Paulo, Atheneu, 1982, p. 51-63.

- HENRY, J.B. Diagnósticos Clínicos e Conduta Terapêutica por Exames Laboratoriais. 16ª ed., São Paulo, Manole LTDA, 1989, p. 372-378.
- HIGASHI Y. ; *et alii*. Ketoconazole as a possible universal inhibitor of cytochromo P-450 dependent enzymes: its mode of inhibition. Endocrinol. Jpn., 34: 105-115, 1987.
- HIGGINS, G. & ANDERSON, R. Experimental pathology of the liver. I restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. Archs. Path., 12: 186-202, 1931.
- HOLMSTRUMP, P. Oral candidosis. 1ª ed., London, MacFarland TN, 1989, p. 3-12.
- IACOPINO, A.M. & WATHEN, F.W. Oral candidal infection and denture stomatitis. J.A.D.A., 123: 46-51, 1992.
- KOZŁOWSKI JUNIOR, V.A. Efeito de antagonistas de receptores H₁ e H₂, sobre a -glutamilttransferase, no soro de ratos parcialmente hepatectomizados. Tese-Mestrado em Farmacologia FOP-UNICAMP, Piracicaba. 1991, 91 p.
- JANSSEN, P.A. & SYMOENS, J.E. Hepatic reactions during ketoconazole treatment. Am. J. Med., 74(1b): 80-5, 1983.
- JONES, H.E. Ketoconazole-progress in diseases of the skin. 2ª ed., New York, Grune & Stratton, 1984, p. 217-249.
- KAMOUN, P. ; FRÉJAVILLE, J.P. Manual de Exames de Laboratório. 4ª ed., São Paulo, Atheneu, 1989, p. 429-431.

- KANASHIMA, R. ; *et alii*. Inhibitory effect of cimetidine on liver regeneration after two-thirds hepatectomy in rats. Am. Surg., 146: 293-298, 1983.
- KARMEN, A. ; WROBLEWSKI, F. ; La DUE, J.S. Transaminase activity in human blood. J. Clin. Invest., 34: 126-30, 1955.
- KING, J. Enzimologia Clínica Práctica. 1ª ed., Zaragoza, Acríbia, 1968, p. 124.
- KOFF, R.S. ; *et alii*. Profile of hyperbilirubinemia in three hospital populations. Clin. Res., 18: 680, 1970.
- LACAZ, C.S. & NEGRO, G.D. Drogas Antifúngicas. Terapêutica das Micoses. In: Silva, P. Farmacologia. 3ª ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1989, p. 1065-97.
- LEHNER, T. Oral candidosis. Dent. Pract., 17: 209-216, 1967.
- LEWIS, J.H. ; *et alii*. Hepatic injury associated with ketoconazole therapy. Analysis of 33 cases. Gastroenterol. 86:503-513, 1984.
- _____ ; ZIMMERMAN, H.J. Doença hepática farmacogênica. Clin. Med. Am. Norte, 73: 851-873, 1983.
- LEWIS, M.A.O. ; SAMARANYAKE ; L.P. ; LAMEY, P.J. Diagnosis and treatment of oral candidosis. J. Oral Maxillofac. Surg., 49: 996-1002, 1991.

- LIMA ; *et alii*. Métodos de Laboratório Aplicados à Clínica: Técnica e Interpretação. 6ª ed., Rio Janeiro, Guanabara Koogan, 1985, p. 112-123.
- MANDELL, G.L. ; DOUGLAS, R.G. ; BENNETT, J.E. Principles and Practice of Infectious Diseases. 3ª ed., New York, Churchill Livingstone Inc., 1990, p. 1942-1958.
- MANSOUR, A. & GELFAND, E.W. A new approach to the use of antifungal agents in infants with persistent oral candidosis. J. Pediatr., 98: 161-162, 1981.
- MARTINDALE - THE EXTRA PHARMACOPOEIA. 29ª ed., London, The Pharmaceutical Press, 1989, p. 1942-1958.
- MATTOS Fz, T.R. Influência da hepatectomia parcial no tempo de sono pelo metohexital em ratos. Tese-Mestrado em Farmacologia FOP-UNICAMP, Piracicaba, 1976, 56 p.
- MEUNIER-CARPENTIER, F. Treatment of mycoses in cancer patients. Am. J. Med., 74(1b): 74-79, 1983.
- MITCHELL, J.R. & POTTER, W.Z. O metabolismo de Medicamentos na Produção de Lesão Hepática. Clin. Med. Amer. Norte, 59: 877-885, 1975.
- MILLER, R.R. Hospital admissions due to adverse drug reactions. A report from the Boston Collaborative Drug Surveillance Program. Arch. Intern., 134: 219-223, 1974.

- MOSCA, P. ; *et alii*. *In vivo* and *in vitro* inhibition of hepatic microsomal drug metabolism by ketoconazole. Br. J. Exp. Pathol., 66: 737-742, 1985.
- NIEMEGERERS, C.J. ; *et alii*. Inhibition and induction of microsomal enzymes in rat. A comparative study of four antimycotics : miconazole, econazole, clotrimazole and ketoconazole. Arch. Int. Pharmacodyn., 251: 26-38, 1981.
- OKSALA, E. Factors predisposing to oral yeast infections. Acta Odontol. Scand., 48: 71-74, 1990.
- OKUMURA, H. ; *et alii*. Severe hepatitis during ketoconazole therapy. Gastroenterol Jpn., 18: 142-7, 1983.
- PRICE, N.C. & STEVENS, L. Fundamentals of Enzymology. 1^o ed., New York, Oxford Science Publications, 1982, p. 308-359.
- ROOBINS, S.L. ; COTRAN, R.S. ; KUMAN, V. Patologia Estrutural e Funcional. 3^o ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1986, p. 849-922.
- RODRIGUES, A.D. ; *et alii*. Spectral and kinetic studies of the interaction of imidazole anti-fungal agents with microsomal cytochromes P-450. Xenobiotica, 17: 1315-1327, 1987.
- RAPHAEL, S.S. Lynch: Técnicas de Laboratório. 4^o ed., São Paulo, Manole, 1986, p. 221-225.

- SAMARANAYAKE, L.P. & HOLMSTRUP, P. Oral candidiasis and human immunodeficiency virus infection. J. Oral Pathol. Med., 18: 554, 1989.
- SAMESHINA, Y. ; *et alii*. Clinical statistics on drug-induced liver injuries in Japan in the last thirty years. Jap. J. Gastroenterol. med., 71: 799, 1974.
- SEKAS, G. & COOK, R.T. The evaluation of liver function after partial hepatectomy in the rat: serum changes. Br. J. Exp. Path., 60: 447-452, 1979.
- SHEETS, J.J. & MASON, J.I. Ketoconazole: a potent inhibitor of cytochrome P-450-dependent drug metabolism in rat liver. Drug. Metab. Dispos., 12: 603-606, 1984.
- STRICKER, B.H. ; *et alii*. Ketoconazole associated hepatic injury. A clinico pathological study of 55 cases. J. Hepatol., 3: 339-406, 1986.
- THORGEIRSSON, S.S. ; *et alii*. Expression of the multidrug-resistant gene in hepato-carcinogenes and regenerating rat liver. Science, 236: 1120, 1987.
- TOMASI, A.F. Diagnóstico Bucal. 1ª ed., São Paulo, Medisa, 1977.
- VAN CUTSEM, J. & JANSSEN, P.A.J. Le spectre antifongique *in vitro* et *in vivo* du ketoconazole. Bulletin de la Société de Mycologie Médicale, 13: 9-30, 1984.

- _____ & VAN GERVAN, F. The in vivo antifungal activity of broad-spectrum azoles. Drug. Development Research, 8: 309-316, 1986.
- VIERA, S. Introdução a Bioestatística. 3ª ed., Rio de Janeiro, Campus, 1985, 294 p.
- VAN TYLE, J.H.V. Ketoconazole. Pharmac. Therapy, 4: 343-373, 1984.
- VILELA, M.P. ; *et alii*. Toxic hepatitis caused by ketoconazole: a report of 4 cases. Rev. Paul. Med., 107: 57-58, 1989.
- WALKER, D.M. & ARENDORF, T. Oral Candidosis. 1ª ed., Bristol, McFarlane, 1990, p. 184-199.
- WEINSTEIN, L. & BARZA, M.J. Bacterial infections: an overview of the development of basic and clinical knowledge. Amer. J. Med. Sci., _____ 273: 4, 1977.
- ZIEVE, L. ; *et alii*. Course of hepatic regeneration after 80% to 90% resection of normal rat liver. J. Lab. Clin. Med., 105: 331-336, 1985.
- ZIMMERMAN, H.J. Serum enzyme measurement in experimental hepatotoxicity. Israel J. Med. Sci., 10: 328-333, 1974.

11 - APÊNDICE

ANEXO - 1

**TABELA DOS RESULTADOS DAS DETERMINAÇÕES INDIVIDUAIS DAS UNIDADES
EXPERIMENTAIS**

TABELA 31 - Atividade sérica da enzima Aspartato-aminotransferase (AST), 12h, 24h, 48h, 72h e 7 dias após hepatectomia parcial, em ratos previamente tratados com cetoconazol 20 mg/Kg de peso/dia, durante 3 dias através de administração intraperitoneal (i.p.).

ANIMAL	ATIVIDADE SÉRICA (U/ml)				
	12h	24h	48h	72h	7dias
1	570	1.154	317	87	49
2	279	819	-	102	70
3	488	856	271	50	38
4	546	419	303	97	66
5	796	733	427	137	97
X	535	796	262	94	64

TABELA 32 - Atividade sérica da enzima Aspartato-aminotransferase (AST), 12h , 24h , 48h , 72h e 7 dias após hepatectomia parcial, em ratos previamente tratados com solução de cloreto de sódio 0,9%, durante 3 dias em volume equivalente aos demais tratamentos através de administração intraperitoneal (i.p.).

ANIMAL	ATIVIDADE SÉRICA (U/ml)				
	12h	24h	48h	72h	7dias
1	654	611	391	117	68
2	704	519	363	126	102
3	600	902	334	107	48
4	347	1.056	226	61	50
5	407	982	192	72	41
X	540	814	301	96	61

TABELA 33 - Atividade sérica da enzima Aspartato-aminotransferase (AST), 12h , 24h , 48h , 72h e 7 dias após falsa cirurgia, em ratos previamente tratados com cetoconazol 20 mg/Kg de peso/dia, durante 3 dias através de administração intraperitoneal (i.p.).

ANIMAL	ATIVIDADE SÉRICA (U/ml)				
	12h	24h	48h	72h	7dias
1	80	94	113	69	52
2	47	68	46	71	66
3	36	75	29	51	29
4	77	80	46	93	34
5	62	42	38	39	68
X	60	73	53	64	49

TABELA 34 - Atividade sérica da enzima Aspartato-aminotransferase (AST), 12h , 24h , 48h , 72h e 7 dias falsa cirurgia, em ratos previamente tratados com solução de cloreto de sódio 0,9%, durante 3 dias em volume equivalente aos demais tratamentos através de administração intraperitoneal (i.p.).

ANIMAL	ATIVIDADE SÉRICA (U/ml)				
	12h	24h	48h	72h	7dias
1	79	63	47	60	49
2	48	52	88	28	73
3	51	134	29	69	29
4	76	53	46	-	31
5	40	32	64	54	52
X	58	66	54	52	46

TABELA 35 - Atividade sérica da enzima Alanina-aminotransferase (ALT), 12h , 24h , 48h , 72h e 7 dias após hepatectomia parcial, em ratos previamente tratados com cetoconazol 20 mg/Kg de peso/dia, durante 3 dias através de administração intraperitoneal (i.p.).

ANIMAL	ATIVIDADE SÉRICA (U/ml)				
	12h	24h	48h	72h	7dias
1	955	549	138	28	34
2	673	484	-	50	44
3	1.209	434	124	44	37
4	1.080	305	156	40	50
5	1.415	490	140	45	36
X	1.066	452	139	41	40

TABELA 36 - Atividade sérica da enzima Alanina-aminotransferase (ALT), 12h , 24h , 48h , 72h e 7 dias após hepatectomia parcial, em ratos previamente tratados com solução de cloreto de sódio 0,9%, durante 3 dias em volume equivalente aos demais tratamentos através de administração intraperitoneal (i.p.).

ANIMAL	ATIVIDADE SÉRICA (U/ml)				
	12h	24h	48h	72h	7dias
1	1.184	318	90	49	28
2	1.273	610	106	53	37
3	1.344	373	153	56	51
4	821	578	165	34	32
5	700	538	177	29	43
X	1.064	483	137	44	38

TABELA 37 - Atividade sérica da enzima Alanina-aminotransferase (ALT), 12h , 24h , 48h , 72h e 7 dias após falsa cirurgia, em ratos previamente tratados com cetoconazol 20 mg/Kg de peso/dia, durante 3 dias através de administração intraperitoneal (i.p.).

ANIMAL	ATIVIDADE SÉRICA (U/ml)				
	12h	24h	48h	72h	7dias
1	29	26	33	28	35
2	31	38	23	20	14
3	19	15	39	31	31
4	40	32	28	33	28
5	28	21	31	27	20
X	29	26	30	27	25

TABELA 38 - Atividade sérica da enzima Alanina-aminotransferase (ALT), 12h , 24h , 48h , 72h e 7 dias falsa cirurgia, em ratos previamente tratados com solução de cloreto de sódio 0,9%, durante 3 dias em volume equivalente aos demais tratamentos através de administração intraperitoneal (i.p.).

ANIMAL	ATIVIDADE SÉRICA (U/ml)				
	12h	24h	48h	72h	7dias
1	36	29	36	23	29
2	30	31	27	50	19
3	41	24	13	29	16
4	28	32	29	-	22
5	23	25	18	28	19
X	31	28	24	32	21

TABELA 39 - Atividade sérica da enzima Aspartato-aminotransferase (AST), em ratos.

ATIVIDADE SÉRICA (U/ml)	

ANIMAL	

1	50
2	35
3	41
4	35
5	39

X	40

TABELA 40 - Atividade sérica da enzima Alanina-aminotransferase (ALT), em ratos.

ATIVIDADE SÉRICA (U/ml)	

ANIMAL	

1	28
2	19
3	15
4	21
5	22

X	21

TABELA 41 - Média dos valores na determinação sérica da atividade enzimática da Aspartato-aminotransferase AST/ (U/ml), 12h, 24h, 48h, 72h e 7 dias após os respectivos procedimentos experimentais.

GRUPO	TEMPOS				
	12h	24h	48h	72h	7dias
1	535	796	262	94	64
2	540	814	301	96	61
3	60	73	53	64	49
4	58	66	54	52	46
5	40	40	40	40	40

TABELA 42 - Média dos valores na determinação sérica da atividade enzimática da Alanina-aminotransferase (ALT) / (U/ml), 12h, 24h, 48h, 72h e 7 dias após os respectivos procedimentos experimentais.

GRUPO	TEMPOS				
	12h	24h	48h	72h	7dias
1	1.066	452	139	41	40
2	1.064	483	137	44	38
3	29	26	30	27	25
4	31	28	24	32	21
5	21	21	21	21	21

ANEXO - 2

TÉCNICA PARA O DOSEAMENTO DA ASPARTATO-AMINOTRANSFERASE E ALANINA-AMINOTRANSFERASE A PARTIR DE AMOSTRAS DE SORO DAS UNIDADES EXPERIMENTAIS.

ANEXO - 2

TÉCNICA PARA O DOSEAMENTO DA ASPARTATO-AMINOTRANSFERASE E ALANINA AMINOTRANSFERASE A PARTIR DE AMOSTRAS DE SORO DAS UNIDADES EXPERIMENTAIS.

1. Rotulou-se os tubos de ensaio com "AST" para a Aspartato-aminotransferase e "ALT" para a Alanina-aminotransferase.
2. Colocou-se 0,5 ml de substrato AST e 0,5 ml substrato ALT em seus respectivos tubos de ensaio.
3. Aqueceu-se os tubos em banho maria (37^o) durante dois minutos.
4. Adicionou-se 0,2 ml de cada amostra nos tubos previamente identificados contendo o substrato AST e 0,1 ml de cada amostra nos tubos previamente identificados contendo ALT.
5. Incubou-se todos os tubos com seus respectivos conteúdos a 37^o em banho-maria por 20 minutos.
6. Adicionou-se 0,5 ml de reagente de cor (2-4 dinitrofenilhidrazina) a cada tubo homogenizando-se bem.
7. Deixou-se em repouso por 20 minutos.
8. Adicionou-se 5,0 ml da solução de hidróxido de sódio a 0,4N a cada tubo, homogenizando-se novamente bem.
9. Deixou-se todas as amostras em repouso por cinco minutos.
10. Efetuou-se as leituras fotométricas em comprimento de onda de 505 nm.
11. Os valores de leitura em Transmitância, foram convertidos em Unidades por mililitro após o uso da curva de calibração, realizada especificamente para este Kit enzimático.

ANEXO - 3

PREPARO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO

ANEXO - 3

PREPARO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO

Colorimetria :

Como a velocidade da reação não é proporcional à atividade enzimática, torna-se impossível a utilização do método de fator colorimétrico, sendo necessário a preparação de uma curva de calibração.

A curva de calibração foi obtida através dos seguintes procedimentos :

1. Identificou-se 5 tubos de ensaio de "1" a "5".
2. Distribuiu-se os reagentes de acordo com a tabela adiante:

REAGENTES	TUBOS				
	"1"	"2"	"3"	"4"	"5"
PADRÃO PIRUVATO	-	0,1 ml	0,2 ml	0,3 ml	0,4 ml
SUBSTRATO AST / ALT	1,0 ml	0,9 ml	0,8 ml	0,7 ml	0,6 ml
ÁGUA DESTILADA	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml
REAGENTE DE COR	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

- Homogenizou-se bem o conteúdo dos respectivos tubos, descansando os mesmos por 20 minutos a temperatura ambiente.
- Adicionou-se 10 ml de hidróxido de sódio 0,4N a cada tubo, homogenizando-se bem e deixando em repouso por 5 minutos a temperatura ambiente.
- Efetuuou-se as leituras fotométricas em comprimento de onda de 505 nm.

Curva de calibração :

Tracou-se a curva de calibração, correlacionando em papel milimetrado os valores das absorvâncias, com as concentrações das respectivas enzimas.

ENZIMAS	TUBOS				
	"1"	"2"	"3"	"4"	"5"
ASPARTATO AMINOTRANSFERASE (unidades/ml)	0	24	61	114	190
ALANINA AMINOTRANSFERASE (unidades/ml)	0	28	57	97	150

Preparo do Padrão Piruvato de Sódio:

Pesa-se 50 mg de piruvato de sódio, transferindo-o para um balão volumétrico de 100 ml, dissolvendo-se com a solução-tampão de fosfatos (pH 7,4), completando o volume para a marca com este mesmo tampão. Estável sob refrigeração à 4°C.