

2 - ARTIGO ORIGINAL

**ESTUDO MORFOMÉTRICO DO EFEITO DO  
TENOXICAM E DO SEU DILUENTE NO ENDOTÉLIO  
VENOSO, EM COELHOS<sup>1</sup>**

**Taylor Brandão Schnaider<sup>2</sup>**  
**Carlos Henrique Vianna de Andrade<sup>3</sup>**  
**Yara Juliano<sup>4</sup>**  
**Neil Ferreira Novo<sup>5</sup>**  
**Miriam de Fátima Brasil Engelman<sup>6</sup>**  
**Gabrielle Sormanti Schnaider<sup>7</sup>**  
**Caroline Sormanti Schnaider<sup>8</sup>**

Schnaider TB, Andrade CHV, Juliano Y, Novo NF, Engelman MFB, Schnaider GS, Schnaider CS. Estudo morfométrico do efeito do tenoxicam e do seu diluente no endotélio venoso, em coelhos. Acta Cir Bras [serial online] 2001 Jul-Set;16(3). Disponível em: URL: <http://scielo.br/acb>.

**RESUMO:** Com o objetivo de avaliar pela morfometria o efeito do tenoxicam e do seu diluente no endotélio venoso, foram utilizados 48 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), brancos, da linhagem Nova Zelândia, machos, com idade acima de 10 semanas, com peso variando entre 2.350 e 3.500 gramas, divididos em dois grupos, denominados Experimento e Controle, que foram observados nos tempos de 6, 12 e 24 horas. Administrou-se nas *venae auriculares dextra e sinistra*, diluente ou tenoxicam/diluente no Grupo Experimento e cloreto de sódio a 0,9% no Grupo Controle. Não se constatou diferença estatisticamente significativa entre o peso dos animais do Grupo Experimento e do Grupo Controle, antes da realização do procedimento. Pode-se observar que após a administração do tenoxicam com o seu diluente ou do diluente isolado, os diâmetros dos núcleos das células endoteliais apresentaram significativamente menor dimensão, quando comparados aos do grupo Controle, em que foi injetado cloreto de sódio a 0,9%. Os resultados encontrados permitem concluir que o tenoxicam com o seu diluente comercial ou o diluente isolado reduzem o diâmetro dos núcleos das células endoteliais das *venae* em que foram injetados os fármacos.

**DESCRITORES:** Endotélio. Morfometria. Antiinflamatórios não esteróides. Coelhos.







**INTRODUÇÃO**

Os antiinflamatórios não esteróides inibem a biossíntese e liberação das prostaglandinas. Além das diversas atividades terapêuticas em comum, compartilham efeitos colaterais indesejáveis que são: ulceração e intolerância gastrointestinais; bloqueio da agregação plaquetária; inibição da motilidade uterina; inibição da função renal mediada pelas prostaglandinas; reações de hipersensibilidade <sup>1</sup>.



Precocemente, na seqüência patológica da enteropatia induzida por indometacina em ratos, a infiltração de

**Services on Demand**

Article

-  Article in xml format
-  Article references
-  How to cite this article
-  Curriculum ScienTI
-  Automatic translation
-  Send this article by e-mail


Indicators

-  Cited by SciELO
-  Access statistics

Related links

Share

-  More
- More

-  Permalink

neutrófilos é precedida por diminuição das vilosidades, possivelmente resultante da contração do músculo liso e alterações microvasculares (ANTHONY et al <sup>2</sup>, NIGARD et al <sup>3</sup>). A lesão microvascular observada inclui aumento de volume celular e picnose do endotélio viloso, com deposição de fibrina intravascular e perivascular, em adição à aderência plaquetária (TARNAWSKI et al <sup>4</sup>, ANTHONY et al <sup>2</sup>, NIGARD et al <sup>3</sup>). Possíveis mecanismos para essa agressão, incluem um efeito lesivo direto dos antiinflamatórios não esteróides no endotélio, assim como um dano das células endoteliais indiretamente induzido por endotoxina, após um aumento da permeabilidade da mucosa às bactérias, ou a combinação de ambos (NIGARD et al <sup>5</sup>).

Em virtude de na clínica anestesiológica termos encontrado pacientes que relataram sinais e sintomas de vasculopatia após a administração endovenosa direta do tenoxicam, pesquisamos na literatura, verificando a inexistência de estudos relativos a esta patologia em seres humanos e em animais de experimentação, encontrando apenas trabalhos que comprovam lesões nos músculos, no aparelho gastrointestinal, no aparelho renal e em outros locais do organismo.

O objetivo dessa pesquisa foi estudar pela morfometria, o efeito do tenoxicam e do seu diluente no endotélio venoso, em coelhos.

## MÉTODOS

Após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Animal, 48 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), brancos, da linhagem Nova Zelândia, machos, com idade acima de 10 semanas, com peso variando entre 2.350 e 3.500 gramas, foram distribuídos aleatoriamente em 2 grupos: Experimento e Controle. O Grupo Experimento foi subdividido em 3 subgrupos de 12 coelhos cada um, denominados Subgrupos E6, E12 e E24, que corresponderam respectivamente aos períodos de observação de 6, 12 e 24 horas, tendo sido administrados aleatoriamente, nas *venae auriculares caudales dextra* e *sinistra* de cada animal, tenoxicam/diluente ou diluente (Figura 1). O Grupo Controle foi subdividido também em 3 subgrupos de 4 coelhos cada um, denominados Subgrupos C6, C12 e C24, que corresponderam respectivamente aos períodos de observação de 6, 12 e 24 horas, tendo sido administrado cloreto de sódio a 0,9% nas *venae auriculares caudales dextra* e *sinistra* de cada animal.

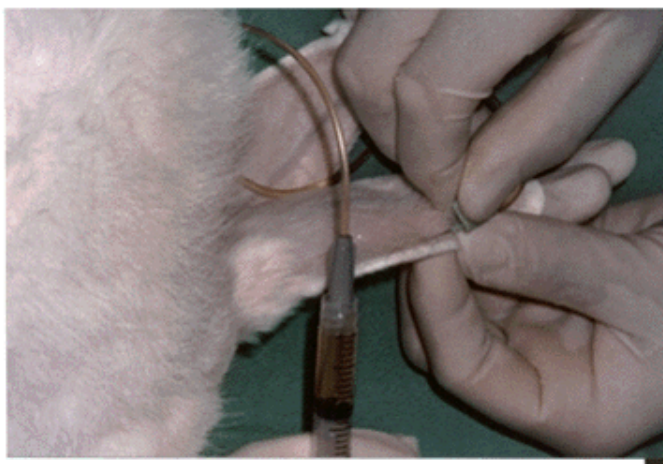


Figura 1 - Fotografia ilustrativa da venopunção e administração de tenoxicam/diluente.

Os animais não sofreram quaisquer restrições com relação à ingestão de alimentos e água até o momento do experimento, sendo então pesados e anestesiados com maleato de acepromazina a 1% na dose de 2 miligramas por quilograma (mg/kg), cloridrato de xilazina a 2% na dose de 5 mg/kg e cloridrato de cetamina na dose de 35 mg/kg, por via intramuscular na *regio glutaea*.

Passados 10 minutos, após administração da anestesia, cada animal foi posicionado em decúbito *dorsalis* sobre a mesa operatória onde os *membri thoracica* e *pelvina* foram contidos com barbantes às extremidades da mesa.

Transcorridos 15 minutos, foi testado o plano anestésico, pesquisando-se o reflexo da resposta do *membrum pelvinum dextri* ao estímulo doloroso na *plicaturae cutis* entre os *digiti* II e III.

Em seguida, foi realizada a anti-sepsia com álcool a 70% e colocados os campos operatórios esterilizados. Foram puncionadas as *venae auriculares caudales dextra* e *sinistra* com "scalp" 27G. Foram injetados, aleatoriamente, tenoxicam/diluente e diluente no Grupo Experimento e cloreto de sódio a 0,9% no Grupo Controle, sendo feita, a seguir, demarcação dos locais de punção com caneta Texta fine line 700. Os 2 mililitros

(ml) das substâncias foram acondicionados previamente em seringas de 3 ml e injetados na velocidade de 1 ml por 30 segundos.

Transcorrido o tempo de evolução programado para cada subgrupo (6h, 12h ou 24h), os animais foram novamente anestesiados, pela mesma técnica utilizada no início do experimento e submetidos à eutanásia, com injeção intracardíaca de 5 ml de cloreto de potássio a 10%. A seguir, foi feito um corte triangular na parte rostral das *auriculae* e colocado um ponto, com fio de algodão 000, na parte distal da *auricula dextra*. Procedeu-se, então, a exereses das *auriculae* em sua base, as quais foram fixadas em formol a 10% tamponado, após observação macroscópica das mesmas ([Figura 2](#)). Os recipientes contendo as peças cirúrgicas foram identificados com o grupo, subgrupo e o número do respectivo animal. No Serviço de Anatomia Patológica da Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Pouso Alegre, as peças foram incluídas em parafina, sendo realizados 5 cortes com 5 micrômetros de espessura cada, a partir de 1 cm do local em que foi realizada a punção, em direção à parte proximal da *auricula*, utilizando-se micrótomo rotativo com navalha descartável. A seguir, os cortes foram colocados nas lâminas, corados por Hematoxilina-Eosina (H-E) e cobertos pelas laminulas. As lâminas foram analisadas ao microscópio óptico (Lambda LQT-2) com aumentos originais de 40, 100 e 400 vezes, digitalizadas (Câmera Samsung SHC-410 NAD) e gravadas em disquetes de 3 1/2. As medidas nucleares foram obtidas medindo-se, em milímetros (mm), seu maior diâmetro transversal, com aumento original de 400 vezes, sendo utilizado o programa Corel DRAW 8, por um examinador que desconhecia qual fármaco havia sido administrado ([Figura 3](#)). Para transformar estas medidas em micrômetros, o número anteriormente obtido, em mm, deve ser dividido por 400 e multiplicado por 1000.



Figura 2 - Fotografia das *auriculae* do *Oryctolagus cuniculus* número 8, do Grupo E 6, após a eutanásia, onde observa-se um corte triangular na parte rostral das *auriculae*, fio de algodão 000 na parte distal da *auricula dextra* e demarcação dos locais das venopunções.

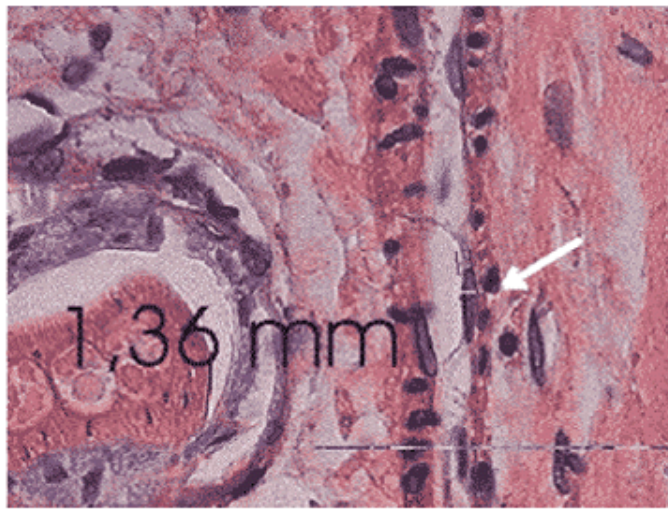


FIGURA 3 - Imagem digitalizada da *vena da auricula sinistra* do *Oryctolagus cuniculus* número 3, do grupo C 12, onde observa-se a medida nuclear, em mm, utilizando-se o programa Corel DRAW 8, com aumento de 400 vezes.

Para análise estatística dos resultados foram aplicados: 1- Teste "t" para grupos independentes (SOKAL<sup>6</sup>), a fim de comparar os grupos Controle e Experimento em relação às medidas dos núcleos das células endoteliais em cada tempo do estudo; 2- Teste "t" para dados emparelhados (SOKAL<sup>6</sup>), a fim de comparar o resultado das medidas dos núcleos das células endoteliais do diluente com o do tenoxicam/diluente em cada tempo do estudo; 3- Teste de Análise de variância para grupos independentes (SOKAL<sup>6</sup>), a fim de comparar os tempos de 6, 12 e 24 horas em cada um dos grupos do estudo, das medidas dos núcleos das células endoteliais. Em todos os testes fixou-se em 0,05 ou 5% ( $\alpha \leq 0,05$ ) o nível de rejeição da hipótese de nulidade, assinalando-se com um asterisco (\*) os valores significantes.

## RESULTADOS

Em relação às médias, em milímetros, das medidas dos diâmetros transversais dos núcleos das células endoteliais, observa-se na [tabela I](#) que: 1) o teste análise de variância, utilizado para comparar as médias das medidas dos diâmetros nucleares, dos tempos de 6, 12 e 24 horas, em cada um dos grupos isoladamente, após a administração do diluente, do tenoxicam/diluente e do cloreto de sódio a 0,9% , não demonstrou diferença estatisticamente significante; 2) o teste "t" para grupos independentes, utilizado na comparação das médias das medidas dos diâmetros nucleares entre os grupos Experimento (diluente e tenoxicam/diluente) e Controle (cloreto de sódio a 0,9%), em cada tempo do estudo, determinou que as médias das medidas dos diâmetros dos núcleos do grupo Controle são sempre maiores, sendo esses resultados estatisticamente significantes; 3) o teste "t" para dados emparelhados, a fim de comparar as médias das medidas dos diâmetros nucleares do grupo Experimento, após a administração do diluente e do tenoxicam/diluente, em cada tempo de observação, não mostrou diferença estatisticamente significante.

**Tabela 1 – Médias, em milímetros, das medidas dos diâmetros dos núcleos, após a injeção do diluente, do tenoxicam/diluente e do cloreto de sódio a 0,9%, nos vários tempos de observação.**

	Grupo Experimento						Grupo Controle		
	Diluente			Tenoxicam/Diluente			Cloreto de sódio a 0,9%		
	6h	12h	24h	6h	12h	24h	6h	12h	24h
	1,72	1,20	1,15	1,71	1,54	1,54	1,93	1,53	1,99
	1,57	1,37	1,65	1,62	1,80	1,45	1,97	2,07	1,62
	1,67	1,87	1,23	1,50	1,70	1,31	2,29	2,14	1,80
	1,56	1,52	1,24	2,02	1,76	1,84	1,85	1,89	2,23
	1,67	1,26	1,57	1,47	1,43	1,45	1,86	1,77	1,90
	1,34	1,48	1,68	1,39	1,62	1,34	1,13	1,93	2,02
	1,62	1,72	1,82	1,40	1,50	1,56	1,87	1,82	1,93
	1,30	1,30	1,56	1,66	1,46	1,30	1,91	1,93	2,14
	1,54	1,21	1,26	1,59	1,77	1,46			
	1,50	1,67	1,68	1,18	1,47	1,49			
	1,50	1,19	1,45	1,65	1,32	1,67			
	1,18	1,61	1,73	1,61	1,38	1,52			
$\bar{X}$	1,51	1,45	1,50	1,56	1,56	1,49	1,85	1,88	1,95
DP	0,16	0,23	0,23	0,20	0,16	0,30	0,32	0,18	0,19

Análise de variância  
(6h x 12h x 24h)  
 $F_{\text{crítico}} = 3,3$

Diluente	Tenoxicam/Diluente	Controle
$F_{\text{calculado}} = 0,32$	$F_{\text{calculado}} = 0,57$	$F_{\text{calculado}} = 0,37$

Teste "t" para grupos independentes  
 $t_{\text{crítico}} = 2,10$

Diluente x Controle			Tenoxicam/Diluente x Controle		
6h	12h	24h	6h	12h	24h
$t = 2,72^*$	$t = 4,63^*$	$t = 4,79^*$	$t = 2,20^*$	$t = 3,96^*$	$t = 5,70^*$
D<C	D<C	D<C	T/D<C	T/D<C	T/D<C

Teste "t" para dados emparelhados  
Diluente x Tenoxicam/Diluente  
 $t_{\text{crítico}} = 2,20$

6h	12h	24h
$t_{\text{calculado}} = -0,70$	$t_{\text{calculado}} = -1,46$	$t_{\text{calculado}} = 0,09$

## DISCUSSÃO

Não foram encontrados estudos na literatura que tenham avaliado o endotélio venoso após a administração do tenoxicam, em seres humanos ou em animais de experimentação.

Ao comparar-se as medidas dos diâmetros dos núcleos, do grupo Experimento, em que se injetou o diluente com as do tenoxicam com seu diluente, em cada tempo do estudo, não se observou diferença estatisticamente significativa.

As médias das medidas dos diâmetros nucleares do grupo Experimento, após a administração do diluente e do tenoxicam com seu diluente foram menores do que as do grupo Controle, em todos os tempos estudados ([Figura 4](#)).

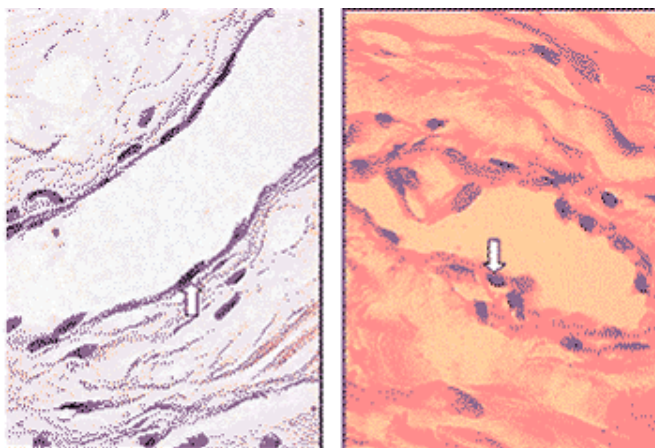


Figura 4 - Imagens digitalizadas das venae auriculares caudales, dos grupos Experimento e Controle, mostrando os núcleos das células endoteliais, com aumento de 400 vezes.

Pode-se tentar explicar as menores dimensões nucleares do grupo Experimento, como consequência da lesão endotelial causada pelas drogas, acarretando a elaboração de substâncias que atuam na modulação do fluxo sanguíneo e reatividade vascular através dos vasoconstritores como a endotelina, levando à diminuição nuclear. Esta hipótese é baseada nos estudos de SCHOEN<sup>7</sup>.

As células morrem não só como resultado de lesões, mas principalmente por um processo fisiológico normal, conhecido como apoptose, um tipo de morte celular programada. Na apoptose, a célula e seu núcleo se tornam compactos, diminuindo de tamanho. Nessa fase, a célula apoptótica é facilmente identificada na microscopia óptica, porque apresenta o núcleo com a cromatina muito condensada e corando-se fortemente (núcleo picnótico)<sup>8</sup>. A apoptose é uma outra hipótese para explicar as menores dimensões nucleares observadas no grupo Experimento.

## CONCLUSÃO

A administração endovenosa do tenoxicam com o seu diluente comercial ou do seu diluente isolado reduzem o diâmetro dos núcleos das células endoteliais das *venae* em que foram injetados

## REFERÊNCIAS

1. Payan DG, Katzung BG. Antiinflamatórios não esteróides; analgésicos não-opióides; fármacos utilizados na gota. In: Katzung BG. Farmacologia básica e clínica. 6ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998. p 408-25. [ [Links](#) ]
2. Anthony A, Dhillon AP, Nigard G, Hudson M, Piasecki C, Strong P et al. Early histological features of small intestinal injury induced by indomethacin. *Aliment Pharmacol Ther* 1993;7:29-40. [ [Links](#) ]
3. Nygard G, Anthony A, Dhillon AP, et al. An immuno-histochemical study of early morphological changes in indomethacin-induced jejunal ulceration in the rat. *Gastroenterology* 1993;104:A756. [ [Links](#) ]
4. Tarnawski A, Stachura J, Gergely H, Hollander D. Gastric microvascular endothelium - a major target for aspirin-induced injury and arachidonic acid protection: an ultrastructural analysis in the rat. *Eur J Clin Invest* 1990;20:432-40. [ [Links](#) ]
5. Nygard G, Hudson M, Mazure G, Anthony A, Dhillon AP, Pounder RE et al. Procoagulant and prothrombotic responses of human endothelium to indomethacin and endotoxin in vitro: relevance to non-steroidal anti-inflammatory drug enteropathy. *Scand J Gastroenterol* 1995;30(1):25-32. [ [Links](#) ]
6. Sokal RR, Rohlf FJ. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. San Francisco: Freeman; 1969. [ [Links](#) ]
7. Schoen FJ. Vasos sanguíneos. In: Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Robbins patologia estrutural e funcional. 5ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996. p 414-56. [ [Links](#) ]
8. Junqueira LC, Carneiro J. Biologia celular e molecular. 7ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000. [ [Links](#) ]

Schnaider TB, Andrade CHV, Juliano Y, Novo NF, Engelman MFB, Schnaider GS, Schnaider CS. Morphometric study on the effect of Tenoxicam and its diluent in the venous endothelium, in rabbits. Acta Cir Bras [serial online] 2001 Jul-Sept;16(3). Available from: URL: <http://scielo.br/acb>.

**ABSTRACT:** To evaluate, by the morphometry, the effect of tenoxicam and its diluent in the venous endothelium, were used 48 white male rabbits (*Oryctolagus cuniculus*), of the New Zealand branch, with age over 10 weeks and weight varying between 2.350 and 3.500 grams. The rabbits were divided in two groups: Experiment and Control, and analyses were conducted in 6, 12 and 24 hours after the procedure. Into the right and left mediales auriculares veins of the Experiment group was injected tenoxicam or tenoxicam and its diluent; in the Control group 0,9% sodium chloride was injected. No statistically significant difference was observed between the animals weight in both groups before the performance of the procedure. It was possible to observe, after the use of tenoxicam with its diluent or the isolated diluent, that the nuclei diameter of the cells of the venous endothelium showed a dimension, markedly smaller when compared to the Control Group, in which was injected 0,9% sodium chloride. The results found allow to conclude that tenoxicam with its commercial or its isolated diluent reduce the nuclei diameter of the cells of the venous endothelium, where they were injected.

**KEY WORDS:** Endothelium. Morphometry. Anti-inflammatory agents, non-steroidal. Rabbits.

Conflito de interesses: nenhum  
Fontes de financiamento: nenhuma

*Endereço para correspondência:*

Prof. Taylor Brandão Schnaider  
Av. Francisca R. de Paula, 289  
Pouso Alegre – MG  
37550-000  
e-mail: [sormanti@uai.com.br](mailto:sormanti@uai.com.br)

Data do recebimento: 26/03/2001  
Data da revisão: 12/04/2001  
Data da aprovação: 21/05/2001

- 1 Resumo da tese de mestrado realizada no Curso de Pós-Graduação em Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina de Pouso Alegre - UNIPA.
- 2 Professor (a) Titular do Departamento de Clínica Cirúrgica da Faculdade de Medicina de Pouso Alegre - UNIPA.
- 3 Professor (a) Titular Doutor (a) do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Pouso Alegre - UNIPA.
- 4 Professor (a) Adjunto Doutor (a) da Disciplina de Bioestatística da UNIFESP - EPM.
- 5 Professor (a) Adjunto Doutor (a) da Disciplina de Bioestatística da UNIFESP - EPM.
- 6 Professor (a) Adjunto do Departamento de Ciências Fisiomorfológicas e Patologia da Faculdade de Medicina de Pouso Alegre - UNIPA.
- 7 Aluno (a) da Faculdade de Medicina de Pouso Alegre - UNIPA
- 8 Aluno (a) da Faculdade de Medicina de Pouso Alegre - UNIPA



**Al. Rio Claro, 179/141**  
**01332-010 São Paulo SP Brazil**  
**Tel./Fax: +55 11 3287-8814**



[sgolden@terra.com.br](mailto:sgolden@terra.com.br)