MAYARA AGUILAR DIAS DE BRITO

**HIALURONIDASE ASSOCIADA À LIDOCAÍNA COM EPINEFRINA EM BLOQUEIO
PTERIGOMANDIBULAR: AVALIAÇÃO DA LATÊNCIA, DURAÇÃO E ÍNDICE DE
SUCESSO ANESTÉSICO, EDEMA FACIAL E ABERTURA BUCAL**

São Paulo

2008

Mayara Aguilar Dias de Brito

**Hialuronidase associada à lidocaína com epinefrina em bloqueio
pterigomandibular: avaliação da latência, duração e índice de
sucesso anestésico, edema facial e abertura bucal**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas.

Área de Concentração: Clínica Integrada

Orientadora: Profa. Dra. Maria Aparecida Borsatti

São Paulo

2008

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Brito, Mayara Aguilár Dias de

Hialuronidase associada à lidocaína com epinefrina em bloqueio pterigomandibular: avaliação da latência, duração e índice de sucesso anestésico, edema facial e abertura bucal / Mayara Aguilár Dias de Brito; orientador Maria Aparecida Borsatti. -- São Paulo, 2008.

83p.: tab., fig.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas. Área de Concentração: Clínica Integrada) -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

1. Enzimas hidrolíticas – Anestésico local – Associação 2. Anestésicos locais (Odontologia)

CDD 617.96
BLACK D91

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE E COMUNICADA AO AUTOR A REFERÊNCIA DA CITAÇÃO.

São Paulo, ____/____/____

Assinatura:

E-mail:

FOLHA DE APROVAÇÃO

Brito MAD. Hialuronidase associada à lidocaína com epinefrina em bloqueio pterigomandibular: avaliação da latência, duração e índice de sucesso anestésico, edema facial e abertura bucal [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

São Paulo, 08/12/2008

Banca Examinadora

1) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

2) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

3) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

À **Deus** por proporcionar saúde, paz e uma vida repleta de felicidade com a oportunidade de tornar muitos de meus sonhos realidade.

Aos **meus pais, Gilson e Miriam**, com amor, respeito e admiração. Dedico esse trabalho com gratidão pelo incansável apoio que me deram durante a realização e execução desse projeto e em todos os outros aspectos da minha vida. Obrigada por serem um exemplo de vida e por muitas vezes se abdicarem de seus desejos para tornar real a educação e realização pessoal de suas filhas.

À **minha irmã Marita e minha avó Romana** por estarem sempre dispostas a me ajudar e me apoiar. Obrigada pelo carinho, amor e proteção que sempre me deram.

Ao **Ramon** e ao **Marcelo** pela convivência familiar e pelos momentos de alegria.

A todos os professores, colegas, técnicos e outras pessoas que de alguma forma colaboraram para a execução deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À **Prof^a. Dra. Maria Aparecida Borsatti** pelo apoio, dedicação e comprometimento na execução deste trabalho. Agradeço também por se tornar alguém importante na minha vida e pelos ensinamentos transmitidos.

Ao **Prof Nicolau Tortamano** (*in memorium*) pela oportunidade de cursar essa pós-graduação.

Ao **Prof Rodney Garcia Rocha** pela oportunidade de aprendizado que me proporcionou ao me receber na Disciplina de Clínica Integrada, pelo exemplo de liderança e humildade.

Ao **Prof Flavio Eduardo Guillin Perez** que me recebeu como aluna no estágio, pela primeira oportunidade, pelos ensinamentos e pela seriedade em relação à Odontologia.

Ao **Prof Mario Sérgio Soares** pelos ensinamentos, exemplo profissional e dedicação à Odontologia.

Ao **Prof Carlos Alberto Adde** pelo incentivo e importantes observações feitas durante esse curso.

Ao **Prof José Leonardo Simone** pelas orientações e apoio durante essa fase da minha vida acadêmica.

Ao **Prof Marcelo Munhões Romano** pela amizade, incentivo e ensinamentos clínicos durante todos os anos em que trabalhamos juntos na graduação.

Ao **Prof Waldyr Antonio Jorge** pela simpatia e incentivo.

À querida **Profa Sibeles Sarti Penha** pela simpatia, amizade e incentivo especialmente na fase inicial do meu estágio na urgência. Obrigada por sempre estar disposta a me ajudar.

À **Profa Isabel Peixoto Tortamano** pela amizade, competência e pelo essencial empréstimo do aparelho *Pulptest* utilizado nesse trabalho.

À **Profa Inês Aparecida Buscariollo** pela amizade, pela simpatia e por encaminhar os pacientes do setor de urgência atendidos nesta pesquisa.

À estimada **Vilma A. Vieira** pelas palavras que disse no momento em que eu precisava ouvi-las e por sempre me apoiar nas horas de dificuldade da realização deste trabalho.

À minha querida amiga **Anna Carolina R. T. Horliana** por sempre me apoiar e pelas palavras de orientação na vida pessoal e profissional. Sempre demonstrando seu companheirismo e brilhantismo, mas nunca deixando de lado a doçura.

Aos meus amigos **Helana Cristina C. Santana e João Rato Tempestini** pela competente ajuda na execução das cirurgias, pela permanente disposição e pelos momentos de alegria que passamos juntos.

Aos meus amigos da pós-graduação: **Alexandre Wuo, Marcelo Sivieiro, Endrigo Sperto, Andréia Perella, Kazue Kanegane, Mauricio Tornelli, Estevam Utumi** pela amizade e companheirismo durante esse curso.

Às **funcionárias do Departamento de Estomatologia** pelo apoio e recepção.

À **Capes** pelo apoio financeiro.

Aos **pacientes** atendidos nesse trabalho, sem os quais a execução se tornaria impossível.

Brito MAD. Hialuronidase associada à lidocaína com epinefrina em bloqueio pterigomandibular: avaliação da latência, duração e índice de sucesso anestésico, edema facial e abertura bucal [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

RESUMO

O uso do adjuvante hialuronidase (H) ao anestésico local (AL) é largamente utilizado em anestesia oftalmológica por melhorar a eficácia anestésica. Quando utilizada em odontologia concomitantemente ao AL na concentração de 150 UTR/ mL, não melhorou o índice de sucesso da anestesia do bloqueio do nervo alveolar inferior e ainda induziu ao trismo. Recentemente foi demonstrado que a H na concentração de 75 UTR/ mL injetada após 40 minutos do início da anestesia pterigomandibular prolongou a duração da anestesia. Ainda não foi avaliada se a H à 75 UTR/mL (metade da concentração) injetada concomitantemente o AL melhora o índice de sucesso sem induzir ao trismo. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da H 75 UTR/ mL injetada concomitantemente ao AL local em relação a latência de ação, duração de ação anestésica, índice de sucesso anestésico, edema pós-operatório e abertura bucal pós-operatória. Em 25 pacientes saudáveis foram realizadas 50 cirurgias (n=25) de terceiros molares inferiores, bilaterais, simétricos, pelo mesmo operador, utilizando para o bloqueio do nervo alveolar inferior 1,8 mL de lidocaína 2% associada à epinefrina 1:100.000 com a hialuronidase ou placebo (veículo) de modo duplo-cego e 1,0 mL para anestesia do nervo bucal. Para a avaliação da latência e duração de ação anestésica na polpa utilizou-se estímulo elétrico e para a gengiva, foi utilizado estímulo mecânico (picada). O edema foi avaliado através de

medidas faciais (distância entre pontos) e a abertura bucal pela distância interincisal, ambos utilizando régua milimetrada. Estas medidas foram obtidas nos tempo: pré-operatório, segundo e sétimo dia pós-operatório. A latência e duração de ação anestésica não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) e não houve aumento do índice de sucesso da anestesia. O edema e a abertura bucal não variaram em relação às soluções utilizadas ($p>0,05$), porém houve diferença significativa de acordo com o tempo pós-operatório ($p<0,05$). Embora a H em menor concentração não tenha induzido efeitos adversos (trismo), também não melhorou sua eficácia. Nestas condições experimentais, pode-se concluir que a hialuronidase na concentração 75 UTR/ mL injetada concomitantemente ao AL não apresenta vantagem clínica.

Palavras-Chave: Anestésicos locais – Odontologia ; Hialuronoglucominidase

Brito MAD. Hyaluronidase with lidocaine and ephinefrine in inferior alveolar nerve block: avaliation of onset time, duration of anaesthetic action, sucess rate, trismus and edema postoperative [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

ABSTRACT

The association of local anaesthetic (LA) with hyaluronidase (H) is widely used in ophthalmic anesthesia in order to improve its effectiveness of anesthesia. In dentistry, H 150 UTR/ mL injected concomitantly to LA solution did not enhance the success rate of anesthesia in inferior alveolar nerve (IAN) block and increased postoperative trismus. Recent studies have proved that when a concentration of 75UTR/ mL was injected 40 minutes after the beginning of the anesthesia in IAN block and lasts the local anesthesia. The purposes of this study were to evaluate the influence of H (75UTR/ mL) in onset time of action (OA), duration of LA action (DA), success rate, trismus and edema after surgical extractions of mandibular thrid molars. In each surgery was injected 1.8ml of 2% lidocaine with epinephrine added to hyaluronidase or placebo (vehicle) in a double blinded method, in 25 healthy patients for bilateral and symmetrical third inferior molar surgeries. The OA and DA were evaluated by electrical stimulus (pulpal anesthesia) in the inferior premolar and by mechanical stimulus (pick) for gingival anaesthesia. Trismus was determined by measuring maximum interincisal opening. Facial swelling was assessed by a tape measuring method (distance between points on the face) at second and seventh postoperative days. There were no significant difference between the H and placebo solutions in OA, DA, success rate, trismus and edema ($p>0.01$). Trismus and edema

were significant different in the second day postoperative ($p < 0.01$) for H and placebo. H added to LA did not influence success rate of LA, OA and DA, trismus and edema postoperative. The concomitant use of LA to H in the concentration of 75 UTR/ mL does not seem advantageous in IAN block.

Keywords: Local anesthetics – Dentistry; Hyaluronoglicosaminidase

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2.1 - Estrutura tridimensional de proteoglicana, onde o eixo central representa o eixo protéico e as cerdas, as cadeias de glicosaminoglicanas	21
Figura 2.2 - Estrutura do ácido hialurônico – o retângulo evidencia a repetição das unidades dissacarídeas ligadas pela ponte β 1-4.....	22
Figura 4.1 - Frascos codificados em A ou B	40
Figura 4.2 - Seringa carpule com tubete contendo solução A ou B	40
Figura 4.3 - Aparelho Pulptest Vitality Scanner Model 2006, SybronEndo [®] , USA ...	41
Figura 4.4 - Radiografia panorâmica.....	42
Figura 4.5 - Método para avaliação da latência de ação e duração de ação anestésica na gengiva	46
Figura 4.6 - Método para avaliação da latência de ação e duração de ação anestésica em tecido pulpar	47
Figura 4.7 - Método para avaliação da abertura bucal.....	48
Figura 4.8 - Método para avaliação do edema facial	49
Figura 5.1 - Histograma representativo dos valores da média aritmética e erro padrão da variável latência de ação anestésica em gengiva e tecido pulpar.....	55
Figura 5.2 - Histograma representativo dos valores da média aritmética e erro padrão da variável duração de ação anestésica em gengiva e tecido pulpar.....	56

Figura 5.3 - Histograma representativo dos valores da média aritmética e erro padrão da variável edema em decorrer do tempo pós-operatório	58
Figura 5.4 - Histograma representativo dos valores (mm) da média aritmética e do erro padrão da variável abertura bucal em decorrer do tempo pós-operatório.....	60
Quadro 4.1 - Classificação de Pell e Gregory (1933)	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 Média e erro padrão do tempo de duração do procedimento cirúrgico com uso de hialuronidase e placebo – valores em minutos	53
Tabela 5.2 Média aritmética e erro padrão da latência anestésica na gengiva e no tecido pulpar com uso de hialuronidase ou placebo - valores em minutos	54
Tabela 5.3 Média aritmética e erro padrão do tempo de duração anestésica na gengiva e em tecido pulpar com uso de hialuronidase ou placebo – valores em hora / minutos	55
Tabela 5.4 Número de falha e complementação anestésica associada a hialuronidase e placebo	57
Tabela 5.5 Média aritmética e erro padrão (valores em milímetros) de edema facial para as soluções hialuronidase e placebo	58
Tabela 5.6 Média aritmética e erro padrão da abertura bucal para as soluções hialuronidase e placebo em decorrer dos tempos pós-operatório – valores em milímetros	59

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

AL	anestésico local
Inc	Incorporation
min	minutos
mm	milímetro
mL	mililitro
q.s.q.	quantidade suficiente para
UI/mL	unidades internacionais por mililitro de volume
UTR	unidade de turbidade reduzida
UTR/mL	unidade de turbidade reduzida por mL
USP	United States Pharmacology
UI	unidades internacionais

µg micrograma

µg/mL micrograma por mililitro

β beta

USA Unites States of América

S/A Sociedade Anônima

FOUSP Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

LISTA DE SÍMBOLOS

mL mililitros

$C_{\max}$ concentração plasmática máxima

$T_{\max}$ latência para à concentração máxima

n tamanho da amostra

1:100.000 um grama para cem mil mililitros

p probabilidade

® marca registrada

% porcentagem

SUMÁRIO

	p.
1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DA LITERATURA	19
3 PROPOSIÇÃO	35
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
5 RESULTADOS	53
6 DISCUSSÃO	61
7 CONCLUSÕES	70
REFERÊNCIAS	71
APÊNDICES.....	75
ANEXOS.....	80

1 INTRODUÇÃO

A necessidade de realizar o bloqueio pterigomandibular em Odontologia é muito freqüente por ser a técnica de escolha para anestesia local na região de mandíbula para realização de procedimentos de restaurações a cirurgias odontológicas (RIDENOUR et al, 2001). Entretanto, essa técnica apresenta elevada taxa de insucesso (VREELAND et al., 1989).

Para tentar minimizar esse problema, alguns adjuvantes têm sido associados aos anestésicos locais, como vasoconstritores, bicarbonato de sódio, hialuronidase, entre outros (HORLIANA et al., 2008).

Destes, a enzima hialuronidase é utilizada há mais de 40 anos em anestesia oftalmológica, injetada concomitantemente ao anestésico local. A associação exhibe vantagens ao melhorar o índice de sucesso e diminuir a latência do efeito anestésico, além de evitar a complementação anestésica o que diminuiu a dose utilizada e, conseqüentemente, reduz a possibilidade de efeitos tóxicos (WATSON, 1993).

A hialuronidase age como um “fator de difusão” ao diminuir as barreiras anatômicas entre o anestésico local e o feixe nervoso. O uso dessa associação em regiões do corpo diferente do globo ocular, não mostrou resultados favoráveis devido às diferenças anatômicas (leito mais aberto), por favorecer a difusão do anestésico local e reduzir a duração anestésica.

Até mesmo em odontologia, o uso da hialuronidase (150 UTR/ mL) concomitante ao AL não melhorou o índice de sucesso e ainda induziu ao trismo (RIDENOUR et al., 2001).

Entretanto, recentemente em odontologia, uma alteração desse protocolo foi testada por Horliana et al. (2008), utilizando hialuronidase na metade dessa concentração, 75 UTR/ mL, injetada não concomitantemente ao AL, mas antes do término do efeito anestésico e observaram aumento significativo da duração anestésica sem induzir ao trismo.

Como a injeção concomitante da hialuronidase ao AL tem a vantagem de realizar uma única punção no paciente, buscou-se utilizar este benefício técnico e também utilizar a hialuronidase em menor concentração, à 75 UTR/ mL, na tentativa de melhorar o índice de sucesso do bloqueio pterigomandibular sem induzir efeitos adversos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

O bloqueio do nervo alveolar inferior é umas das técnicas anestésicas que apresenta maiores índices de insucesso, podendo chegar de 43 a 57% de falha na região de molares e de 88% na região de incisivos laterais inferiores. (VREELAND et al., 1989).

O aditivo hialuronidase é uma enzima largamente utilizada na área de Oftalmologia em bloqueio peribulbar e retrobulbar para aumentar o sucesso dessas técnicas anestésicas e reduzir a necessidade de complementação anestésica. Mais recentemente na Odontologia, sua utilização com anestésico local prolongou a duração do bloqueio do nervo alveolar inferior (KALLIO; PALOHEIMO; MAUNUKSELA, 2000; HORLIANA et al., 2008).

A enzima hialuronidase age como um fator de difusão ao provocar a quebra do ácido hialurônico da matriz extracelular, reduzindo temporariamente as barreiras anatômicas entre o anestésico local e o nervo (FARR et al., 1997; WATSON, 1993).

2.1 Matriz extracelular

Os tecidos conjuntivos são responsáveis pelo estabelecimento e manutenção da forma do corpo. Este papel mecânico é dado por um conjunto de moléculas (matriz) que conecta e liga as células e órgãos, dando dessa maneira suporte ao corpo. Os componentes do tecido conjuntivo podem ser divididos em três classes: células, fibras e substância fundamental. Diferentemente dos tecidos nervoso,

epitelial e muscular que são formados principalmente por células, o tecido conjuntivo é formado por matriz extracelular. A matriz extracelular é formada por combinações diferentes de proteínas fibrosas e de substância fundamental. A substância fundamental é um complexo viscoso e altamente hidrofílico de macromoléculas aniônicas (glicosaminoglicanos e proteoglicanos) e glicoproteínas multiadesivas (laminina, fibronectina, entre outras) (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2000).

A ampla variedade de tecidos conjuntivos reflete a variação na composição e na quantidade de seus três componentes – célula, fibra e substância fundamental – os quais são responsáveis pela diversidade estrutural, funcional e patológica do tecido conjuntivo. A matriz do tecido conjuntivo também serve como um meio através do qual nutrientes e catabólitos são trocados entre as células e seu suprimento sanguíneo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2000).

A substância fundamental intercelular é uma mistura molecular complexa, incolor e transparente, que preenche os espaços entre as células e as fibras do tecido conjuntivo e, por ser viscosa, atua como lubrificante e como barreira à penetração de microrganismos invasores (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2000; ROSS; REITH; ROMRELL, 1993).

As glicosaminoglicanas são polímeros lineares formados por unidades repetidas dissacarídicas composta de ácido urônico e de uma hexosamina. O ácido urônico pode ser o ácido glicurônico ou o ácido idurônico. Com exceção do ácido hialurônico, todas essas cadeias lineares são ligadas covalentemente a um eixo protéico, formando a molécula de proteoglicana. Esta molécula é uma estrutura tridimensional que pode ser imaginada como uma escova de limpar tubos na qual a haste representa o eixo protéico de proteoglicana e as cerdas as cadeias de glicosaminoglicanos (Figura 2.1). As moléculas de proteoglicanas se ligam à cadeia

de ácido hialurônico e formam grandes agregados de proteoglicanas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2000).

Figura 2.1- Estrutura tridimensional de proteoglicana, onde o eixo central representa o eixo protéico e as cerdas, as cadeias de glicosaminoglicanas

2.2 Ácido hialurônico – local de ação da enzima hialuronidase

O ácido hialurônico (hialuronato) é uma glicoproteína que compõe a substância fundamental amorfa, presente nos espaços entre as células e fibras do tecido conjuntivo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2000; KREIL, 1995). Esta substância foi isolada em 1934 por Meyer e Palmer, a partir do vítreo dos olhos e denominaram-na de ácido hialurônico, do grego *hyaloid* (vítreo) e ácido urônico (WEIGEL; HASCALL, TAMMI, 1997).

Esta molécula altamente presente na matriz extracelular dos tecidos dos vertebrados está envolvida em muitos processos biológicos fundamentais como adesão celular, proliferação e diferenciação celular durante a embriogênese regulação, organização e metabolismo da matriz extracelular, controle de processos complexos como metástase, cicatrização e inflamação.

Esta glicoproteína é sintetizada na face citoplasmática da membrana plasmática, catalisada pela HA sintase (HAS) e é transportada para fora da célula assim que é sintetizada. A meia-vida do ácido hialurônico varia de 1 a 3 semanas em tecido cartilaginoso e a meia-vida na epiderme é de 1 dia (DESCHREVEL et al., 2008; WEIGEL; HASCALL; TAMMI, 1997).

O ácido hialurônico é um polissacarídeo linear de alto peso molecular (maior que 10.000), constituído pela repetição de até 30.000 vezes as unidades dissacarídeas de N-acetilglucosamina e ácido glicorônico, os quais são ligadas alternadamente pelas pontes β 1-4 ou β 1-3, que pode ser visualizada na figura 2.2 (DESCHREVEL et al., 2008; HYNES; WALTON, 2000; WEIGEL; HASCALL; TAMMI, 1997).

Figura 2.2 - Estrutura do ácido hialurônico – o retângulo evidencia a repetição das unidades dissacarídeas ligadas pela ponte β 1-4

2.3 Hialuronidase

O termo hialuronidase é utilizado para descrever as enzimas que quebram o substrato do ácido hialurônico (HYNES; WALTON, 2000). Também é chamada de hialuronoglicosaminidase. Historicamente, a hialuronidase foi descoberta por dois grupos de pesquisa. Uma das linhas de pesquisa teve início com Duran-Reynals em

1929 que extraiu a enzima de mamíferos e de outros tecidos que apresentavam um “fator de difusão” para facilitar a difusão de vacinas anti-virais injetadas via subcutânea (DURA-REYNALS¹, 1928, apud MEYER, 1971; KREIL, 1995). Outra pesquisa isolou e caracterizou o ácido hialurônico, suas propriedades físico-químicas e biológicas (MEYER; PALM, 1934², apud KREIL, 1995). Assim a hialuronidase passou a ser vista como um fator de difusão que degrada o ácido hialurônico, porém apenas em 1971, Meyer demonstrou que existem pelo menos três subtipos de hialuronidase e que essas hidrolisam o ácido hialurônico de maneira distintas.

Os três subgrupos de enzimas que hidrolisam o ácido hialurônico são:

- a) Hialuronato-4-glicanohidrolase (EC 3.2.1.35) ou tipo testicular: presente no espermatozóide dos mamíferos, lisossomos e em veneno de cobras, peixes, escorpiões, aranhas, entre outros. Este degrada o ácido hialurônico em tetrassacarídeos e há quebra das ligações β 1,4 – glicosídica (HYNES; WALTON, 2000; KREIL, 1995);
- b) Hialuronato-3-glicanohidrolase (ou hialuronidase sanguínea) (EC 3.2.1.36) produzido por sanguessugas e alguns vermes. Também degrada o ácido hialurônico tendo como produto final tetrassacarídeos (HYNES; WALTON, 2000; KREIL, 1995);
- c) Hialuronidase bacteriana (EC 4.2.99.1) que degrada o ácido hialurônico nas ligações β , tendo como produto final dissacarídeos (HYNES; WALTON, 2000; KREIL, 1995).

A hialuronidase utilizada aqui é a tipo testicular (EC 3.2.1.35 ou Hialuronato-4-glicanohidrolase) também encontrada no corpo humano em órgãos como o rim, fígado, pele, olhos, útero e placenta, no tecido conjuntivo frouxo e em líquidos

¹ Dura-Reynals, F. Exaltation de l'activité du virus vaccinal par les extraits des certains organes. Comptrend Soc Biol 1928;99:6.

² Meyer K, Palmer JW. The polysaccharide of the vitreous humor. J Biol Chem 1934;107:629-34.

corporais como líquido sinovial, lágrimas, sangue e esperma. Sua ação acontece pela quebra aleatória da ligação β -N-acetil-hexosamina (1-4) glicosídica, originando oligossacarídeos, muitos tetrassacarídeos e N-acetilglicosaminas (MENZEL; FARR, 1998).

Após a quebra dessas ligações causada pela ação da enzima, que liquefaz a barreira intersticial presente entre as células, o tecido tem sua estrutura restabelecida num período de 1 a 2 dias, como afirmaram Young, Kingsbury (1955), porém, segundo Farr et al. (1997), de 2 a 4 dias.

A excreção da hialuronidase do plasma é rápida. Em injeções intra-venosas realizadas com 5.000 UI por quilo de peso, não há atividade da enzima após 45 minutos da aplicação com meia vida plasmática $2,1 \pm 0,2$ min. Injeções repetidas dessa enzima não resultam em elevação contínua da quantidade sérica (WOLF et al., 1982). Essa meia vida curta da enzima não é devido à excreção urinária ou biliar, sendo que a distribuição pelos tecidos corpóreos se mostrou maior no fígado (MENZEL; FARR, 1998).

A distribuição efetua-se no fígado, rins, trato gastrointestinal e demais partes do organismo. A eliminação é realizada em três fases: na primeira fase, há uma rápida queda de atividade sérica, na segunda fase ocorre a passagem da enzima do ambiente intravascular para o extravascular com duração de aproximadamente uma a duas horas e a terceira fase, a hialuronidase é desativada e eliminada, com duração de aproximadamente duas a três horas (HORLIANA et al., 2008; YOUNG; KINGSBURY, 1955).

Contudo as características farmacocinéticas dessa enzima não são simples, já que no próprio organismo há hialuronidase no sangue circulante, além do fato de

que os seres humanos possuem diversos tipos de inibidores de hialuronidase (HORLIANA et al., 2008; MENZEL; FARR, 1998).

A atividade da hialuronidase é modulada por vários fatores ativadores como adrenalina, histamina, fosfatases formada na próstata, baço, rim, eritrócitos e plaquetas e ainda inibidores como anti-histamínico, salicilatos, heparina, vitamina C e flavonóides (MENZEL; FARR, 1998).

2.4 Aplicação clínica da hialuronidase

A hialuronidase do tipo testicular tem sido utilizada em muitas áreas da medicina como oftalmologia, cirurgia, ginecologia, entre outras (MENZEL; FARR, 1998). Sua utilização tem sido relacionada à sua capacidade de reduzir a viscosidade da matriz extracelular tornando os tecidos permeáveis a fluidos injetados, facilita a reabsorção de fluidos extracelulares, o que clinicamente resultaria em diminuição de edema quando injetada localmente (FARR et al., 1997; SALMEN, 2003; SHUTTEE, 1962).

Em relação à toxicidade da hialuronidase, não existe nenhum motivo que contra-indique a utilização dessa enzima, além de que ela não é capaz de atravessar a barreira sanguínea cerebral em pacientes saudáveis (MENZEL; FARR, 1998). É importante salientar o caráter antigênico da enzima, isoladamente ou em combinação. Apesar de raros os casos de alergia reportados na literatura, a hialuronidase pode apresentar um papel importante no aumento da permeabilidade observada em reações anafiláticas (WATSON, 1993). Nicoll et al. (1986) relataram

que em sua experiência clínica, administraram mais de 6000 soluções contendo hialuronidase e não encontraram nenhum caso de alergia.

Em cirurgias oftálmicas, a hialuronidase tem sido utilizada juntamente com o anestésico local com o propósito de facilitar a difusão deste na gordura periocular, através da hidrólise do ácido hialurônico do tecido intersticial, melhorando o bloqueio nervoso e permitindo a utilização de menores volumes de AL (BOWMAN et al., 1997; DEMPSEY; BARRETT; KIRBY, 1997; SARVELA; PALOHEIMO; NIKKI, 1994; SOARES et al., 2002; WATSON, 1993), além de causar a diminuição da pressão intra-ocular (SOARES et al., 2002) e apresentar ação protetora contra lesões musculares causada por anestésico local (HAMADA et al., 2005). Como adjunto ao AL, a hialuronidase foi testada pela primeira vez por Atkinson em 1949, que relatou melhor eficácia na acinesia em bloqueio retrobulbar dos músculos extra-oculares e orbicular (ASLAM et al., 2006).

A aplicação da hialuronidase também aumenta a eficácia do bloqueio nervoso em anestesia oftalmológica. Nicoll et al. (1986) avaliaram 100 voluntários que foram submetidos a bloqueio retrobulbar para a realização de cirurgia oftalmológica e comparou a eficácia de 3,5 mL da solução de AL (mistura de 3mL de bupivacaína 0,5% associado a 2 mL de lidocaína 2%) utilizado isoladamente ou associado a hialuronidase 75 UI/mL. Observaram que os voluntários que receberam a solução de AL associado à hialuronidase apresentaram melhor bloqueio retrobulbar em relação ao grupo que não a recebeu, com índice de sucesso de 81% *versus* 49%, respectivamente.

Aslam et al. (2006) avaliaram o efeito da hialuronidase na mobilidade dos olhos e na função dos músculos orbicular e levantados em anestesia sub-Tenon em 60 pacientes submetidos a cirurgia oftálmica, administrando 4mL de lidocaína 2%

associada ou não a hialuronidase 75UI/mL. Demonstraram que o grupo que recebeu a hialuronidase apresentou melhor acinesia ocular e dos músculos da pálpebra aos 8 minutos após a injeção das soluções, concluindo que a adição da hialuronidase na anestesia sub-Tenos resulta em melhor acinesia ocular e palpebral.

Mesmo em oftalmologia a concentração ideal de hialuronidase a ser utilizada concomitante ao anestésico local ainda não está bem determinada (BRYDON, 1995). Com a finalidade de comparar concentrações baixas de hialuronidase a serem utilizadas concomitantemente ao anestésico local em bloqueio retrobulbar e peribulbar, um estudo utilizou 714 voluntários que foram submetidos à cirurgia ocular. Estes foram separados em três grupos variando a concentração de hialuronidase: 3,75 UI/mL ($n=244$), 7,5 UI/mL ($n=229$) e sem hialuronidase ($n=241$) associada à solução (mistura de 1:1) de bupivacaína 0,75% e lidocaína 2%. O volume da solução anestésica injetada variou de 6 a 8mL. Foi demonstrado que tanto na concentração na 3,75 quanto à 7,5 UI/mL, o bloqueio anestésico foi suficiente e houve acinesia significativamente maior que no grupo sem hialuronidase, sendo que entre os grupos com hialuronidase não houve diferença. Concluíram que a adição da hialuronidase nas concentrações 3,75 ou 7,5 UI/mL aumentaram o índice de sucesso dessas técnicas anestésicas e da acinesia, diminuindo a necessidade de complementação anestésica. Afirmaram ainda que, não houve aparentemente relação entre a dose de hialuronidase injetada e a qualidade do bloqueio peribulbar (KALLIO; PALOHEIMO; MAUNUKSELA, 2000).

Em outro estudo que comparou a utilização de hialuronidase 150 UI/mL ou placebo associados a 10 mL de uma mistura 50:50 de lidocaína 2% com epinefrina 1:200.000 e bupivacaína 0,5% em anestésias peribulbares, não encontrou diferença significativa para a acinesia entre os grupos (BOWMAN et al., 1997).

Outro estudo realizado com 200 voluntários que foram submetidos à cirurgia oftálmica, comparou três grupos divididos em: grupo 1 ($n=75$) que recebeu 5 mL de uma mistura 1:1 de bupivacaína 0,5% com lidocaína 2% sem hialuronidase, grupo 2 ($n=75$) recebeu o mesmo anestésico com o mesmo volume associado a 50 UI/mL de hialuronidase e o grupo 3 ($n=75$) recebeu 300 UI/mL de hialuronidase. A falta de motilidade dos olhos (acinesia) foi considerada sucesso anestésico e os movimentos foram avaliados nos intervalos de tempo: 1, 5 e 10 minutos. Demonstraram que a falta de mobilidade nos olhos a um minuto no grupo que recebeu a hialuronidase a 300 UI/mL foi significativamente maior que no grupo controle. Aos 5 minutos, o sucesso anestésico foi maior nos grupos que receberam hialuronidase (grupos 2 e 3) e que não houve diferença significativa aos 5 minutos entre os grupos 2 e 3. Com a hialuronidase houve aumento do índice de sucesso anestésico em ambas as concentrações, porém o autor indica o uso da enzima em maior concentração por apresentar um tempo de latência anestésica menor (DEMPSEY; BARRETT; KIRBY, 1997).

Alguns estudos demonstram que a hialuronidase além de aumentar a difusão do anestésico local nos tecidos circundantes, diminuindo o tempo de latência e aumentando o sucesso anestésico, também pode aumentar a absorção do anestésico local para a corrente sanguínea (BARR et al., 1995; NATHAN et al., 1996).

Barr et al. (1995) mensuraram a concentração plasmática (C_{max}) da lidocaína e da bupivacaína após duas injeções de bloqueio peribulbar e estudou a influencia da hialuronidase e de adrenalina nesse parâmetro. Avaliando 24 voluntários divididos em quatro grupos – grupo 1: somente o anestésico local lidocaína 10mg/mL associada à bupivacaína 3,75 mg/mL; grupo 2: AL anterior associado a

adrenalina (5µg/mL); grupo 3: AL com hialuronidase 75 UI/mL; grupo 4: AL com adrenalina e hialuronidase. Foi avaliada através de cromatografia líquida a C_{max} do AL no intervalo de tempo de 5 a 540 minutos após as aplicações peribulbares. Observou-se que adrenalina reduziu a C_{max} da lidocaína em 57% e da bupivacaína em 61% e a hialuronidase não apresentou influencia nos valores de C_{max} . A hialuronidase também não alterou a quantidade de AL absorvida ao tempo de 300 minutos, sendo essa absorção alterada somente pelo uso da adrenalina. Os autores enfatizam a relata a importância do uso da adrenalina em técnicas de bloqueio regional no sentido de reduzir a absorção do AL, prolongar o efeito anestésico e reduzir a toxicidade.

Nathan et al. (1996) compararam a farmacocinética dos AL lidocaína e bupivacaína associadas ou não a hialuronidase utilizada em bloqueio peribulbar. Vinte e um pacientes submetidos à cirurgia de catarata, foram divididos em dois grupos: um grupo recebeu a mistura anestésica de 5,5mL de bupivacaína 0,5% com 5,5mL de lidocaína 2% associado a 100UI de hialuronidase e o outro grupo recebeu a mesma mistura anestésica associada à água destilada. Através do método de cromatografia líquida de alta performance, ele avaliou a C_{max} até 360 minutos após a aplicação do AL e determinou o tempo de demora para alcançar o C_{max} (T_{max}). Também avaliou o tempo de latência anestésica, a duração de ação anestésica e a acinesia. Observaram que o T_{max} da lidocaína e da bupivacaína foi menor na presença da hialuronidase, apesar da adição de hialuronidase não alterar o C_{max} , o volume de distribuição da droga e a meia vida plasmática. Concluíram que a hialuronidase apesar de aumentar a difusão do AL para a corrente sanguínea, não altera a C_{max} , que foi menor que as dose tóxica. Já o tempo de latência anestésica, foi modificado e o grupo com hialuronidase apresentou o menor período ($5,2 \pm 2,0$

min) em relação ao grupo controle ($7,2 \pm 3,0$ min). Em relação à duração de ação anestésica, não houve diferença entre os grupos.

Apesar de não haver consenso na concentração ideal do uso da hialuronidase e ainda ser contraditória a sua eficácia em bloqueios para cirurgia oftálmica, ela é indicada para os iniciantes na prática da anestesia peribulbar (MANTOVANI; BRYANT; NICHOLSON, 2001).

Muitos estudos têm sido realizados na área oftalmológica, porém em outras áreas da medicina, seus efeitos são controversos (HORLIANA et al., 2008).

Na odontologia, um número considerável de cirurgiões dentistas nos Estados Unidos e em outras localidades, tem acrescentado a hialuronidase às soluções anestésicas e relataram menor tempo de latência anestésica no bloqueio do nervo alveolar inferior e aumento da taxa de sucesso dessa anestesia, já que essa técnica apresenta grandes taxas de insucesso, podendo chegar a 57% na região de molares (MALAMED, 2001; VREELAND et al., 1989).

Isso demonstra que há um grande interesse em relação a este assunto e que são necessárias investigações clínicas para demonstrar a eficácia, segurança e dosagem apropriada a ser utilizada (HORLIANA et al., 2008; MALAMED, 2001).

Muitos estudos utilizaram a hialuronidase na odontologia em meados da década de 50. Shuttee (1962) realizou em estudo utilizando um grupo com hialuronidase 150USP – unidades de hialuronidase por milímetro cúbico – associado a 1,8mL de lidocaína 2% associada a epinefrina 1:100.000 (grupo experimental) ou solução salina para o grupo controle em exodontia de terceiros molares inferiores. A injeção da hialuronidase ou da solução salina foi efetuada na região do terceiro molar a ser operado e o autor avaliou o trismo através da distância interincisal com a boca em sua abertura máxima nos tempos 24, 48 e 96 horas pós-operatória. Avaliou

a dor e o edema utilizando uma escala de zero a três para cada período de observação. Observou que o trismo ocorria em geral nas primeiras 24 horas pós-operatória, porém a recuperação foi melhor nos locais onde se utilizou a hialuronidase. Em relação ao edema, este foi significativamente menor no segundo e quarto dia pós-operatório na região onde se utilizou a hialuronidase. Quanto a dor pós-operatória, este autor afirmou que foi significativamente menor nas primeiras 24 horas pós-operatória do lado que utilizou a hialuronidase. E concluiu que a hialuronidase foi benéfica na redução do trismo, edema e dor pós-operatória.

Como aditivo em anestesia local para a odontologia, a hialuronidase foi utilizada na anestesia do nervo alveolar inferior na concentração 150UTR por Ridenour et al. (2001) juntamente com o anestésico local lidocaína 2% associada a epinefrina 1:100.000 na tentativa de aumentar o sucesso dessa técnica anestésica. O estudo contou com a participação de trinta pacientes, sendo que os pacientes receberam de um lado o AL associado à hialuronidase e do outro lado apenas o AL. Não foi encontrada diferença significativa entre as duas soluções. Este estudo também avaliou a dor na área da injeção através do emprego de uma escala de dor (sem dor, dor média, dor moderada e dor severa) imediatamente após a punção, e a cada manhã após três dias da punção e perguntou aos participantes da pesquisa se houve dificuldade em abrir a boca, não mensurando a abertura bucal no pré e no pós-operatório. O resultado obtido foi de que a injeção com hialuronidase apresentou resultado significativamente maior de dor e de pacientes que reportaram trismo.

Outro estudo associando hialuronidase e anestesia local em odontologia foi realizado por Horliana et al. (2008), porém esses autores modificaram o momento da aplicação da hialuronidase. Vinte voluntários foram submetidos à exodontia de

terceiros molares inferiores sob anestesia do nervo alveolar inferior com 2,8mL de mepivacaína 2% associada a epinefrina 1:100.000 e poderiam receber a hialuronidase 75UTR ou placebo (veículo) aos 40 minutos após o início da anestesia pulpar. A duração de ação anestésica em tecido pulpar foi avaliado através de resposta dolorosa ao teste elétrico aplicado ao pré-molar adjacente ao terceiro molar a ser extraído e a duração na gengiva foi avaliada por teste mecânico na gengiva vestibular. Em ambos os tecidos, a duração de ação anestésica no grupo que recebeu a solução de hialuronidase foi significativamente maior que no placebo. Concluíram que a hialuronidase aumenta a duração anestésica da mepivacaína no bloqueio do nervo alveolar inferior.

Como discorrido aqui, os estudos mostraram resultados diferentes e muitas vezes não conclusivos em relação à adição da hialuronidase aos anestésicos locais. Com isso, questiona-se a concentração utilizada por Ridenour et al. (2001) poderia ser muito elevada (150 UTR) o que influenciado negativamente o pós-operatório, além de que esses autores apenas questionaram aos pacientes se eles apresentaram dor e trismo, utilizando parâmetros subjetivos, e não realizando medidas através de um método objetivo quantitativo, como realizado por Shuttee (1962).

2.5 Anestésico local e vasoconstritor

A anestesia local é um método primário de controle da dor em odontologia. Após 1948, quando o lidocaína teve o início de sua comercialização, ela se tornou

um AL amplamente utilizado e ao qual todos os AL novos são comparados (VREELAND et al., 1989; VASCONCELOS; VASCONCELOS; GENÚ, 2008).

A anestesia pulpar profunda é importante para que o cirurgião dentista consiga realizar com sucesso muito dos procedimentos odontológicos, porém muitas vezes ela não é alcançada. A técnica de bloqueio do nervo alveolar inferior é a que apresenta maior índice de falha, podendo ocorrer em até 88% dos casos e que a percepção da sensação de anestesia (formigamento no lábio) relatada pelos pacientes não garante anestesia pulpar satisfatória (VREELAND et al., 1989).

O anestésico local utilizado para esse estudo foi a lidocaína 2% associada a epinefrina 1:100.000. O uso do anestésico local associado a epinefrina é de grande importância já que diminui a concentração plasmática do anestésico local, aumenta a duração de ação e a qualidade da anestesia, reduz a quantidade de anestésico necessário para o bloqueio anestésico e diminui o volume da perda sanguínea em procedimentos cirúrgicos. A concentração do vasoconstritor epinefrina 1:100.000 foi escolhida já que comparando-se diferentes concentrações de epinefrina -1:50.000, 1:80.000 e 1:100.000 - para anestesia do nervo alveolar inferior em 30 pacientes não foi encontrado diferença estatisticamente significativa em relação a duração de ação e na taxa de sucesso anestésico (DAGHER; YARED; MATCHTOU, 1997; SISK, 1992).

O uso de volume inapropriado de anestésico local ou sua alta concentração pode resultar em complicações sistêmicas sérias (VASCONCELLOS; VASCONCELLOS; GENÚ, 2008), portanto quantidade suficiente, porém a menor possível deve ser utilizada (MALAMED, 2001).

Para avaliar a quantidade necessária de AL no interior da fibra nervosa para que ocorra o efeito anestésico, Popitz-Bergez et al. (1995) utilizou 0,1mL de

lidocaína 1% marcada com carbono (C14) em bloqueio do nervo ciático de ratos e avaliou a concentração intraneural desse AL, observando que nos primeiros três minutos a concentração aumentou rapidamente em $1,3 \pm 0,5\%$, aumentando para $1,9 \pm 0,17\%$ no período até 15 minutos, mantendo-se estável até um período de declive da concentração dos 20 aos 60 minutos em $1,1 \pm 0,12\%$ do total da dose administrada. Quando a sensação dolorosa retorna, a lidocaína intraneural está em concentração de $0,4 \pm 0,02\%$ do total injetado, que representa 1/3 daquela concentração encontrada quando há bloqueio anestésico. Ou seja, durante o bloqueio do nervo periférico, apenas uma pequena quantidade do AL injetado (1,2 %) alcança o nervo para produzir o bloqueio nervoso, pois a difusão da droga é dificultada por barreiras anatômicas. Enquanto isso, outra fração do AL é absorvida pela corrente sanguínea e pelos tecidos que circundam o nervo.

3 PROPOSIÇÃO

Avaliar se a hialuronidase à 75UTR/ml injetada concomitante ao anestésico local influencia o índice de sucesso da técnica de bloqueio pterigomandibular, latência e duração de ação anestésica, a abertura bucal e edema pós-operatório em exodontia de terceiros molares inferiores.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados vinte e cinco voluntários de ambos os gêneros que apresentassem dois terceiros molares inferiores retidos com indicação para exodontia.

Foi seguido rigorosamente o protocolo aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa nº. 54/03 (Anexo A) e a participação destes voluntários foi possível após anuência e assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido por Escrito (Anexo B).

4.1 Material

4.1.1 Critérios de inclusão

Os voluntários foram selecionados no Setor de Urgência Odontológica da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo pela pesquisadora, segundo os critérios:

- I. Deveriam apresentar terceiros molares inferiores bilaterais (dentes 38 e 48) com indicação para exodontia e com disposição anatômica idêntica. O grau de complexidade das cirurgias foi padronizado segundo a classificação de

Pell e Gregory (1993). Foram incluídos na amostra somente aqueles que apresentassem posição 1 ou 2 e classificação I e II;

Classificação de Pell e Gregory	
Classe I	Existe espaço suficiente entre o ramo e a distal do segundo molar para a acomodação do diâmetro mesio distal do terceiro molar
Classe II	O espaço entre o segundo molar e o ramo da mandíbula é menor que o diâmetro mesio distal do terceiro molar
Classe III	O terceiro molar está no ramo da mandíbula
A	A porção mais alta do terceiro molar está acima do plano oclusal.
B	A porção mais alta do terceiro molar está entre o plano oclusal e a linha cervical do segundo molar
C	A mais alta porção do terceiro molar está abaixo da linha cervical do segundo molar

Quadro 4.1 – Classificação de Pell e Gregory (1933)

- II. Ser normorreativos, estado físico ASA I – sistema de avaliação física da American Society of Anesthesiologists que indica paciente saudável, sem qualquer tipo de doença sistêmica leve ou moderada; (MALAMED, 2001)
- III. Estar com idade de 20 a 31 anos

4.1.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos os voluntários que apresentassem:

- I. Qualquer disfunção sistêmica, especialmente com histórico de distúrbios associados ao colágeno como escorbuto, síndrome de Ehlers Danlos, artrite reumatóide, osteogênese imperfeita;
- II. Mulheres durante o período de gestação ou lactação;
- III. Fumantes;
- IV. História de sensibilidade a qualquer medicamento utilizado na pesquisa;
- V. Presença ou história de lesão cancerígena ou infecciosa;
- VI. Indivíduos que fizeram uso de medicação nos últimos 15 dias (exceto anticoncepcionais orais);
- VII. Presença de abscesso ou pericoronarite na região a ser operada;
- VIII. Ausência de dente pré-molar hígido
- IX. Dentes pré-molares com tratamento endodôntico, exposição dentinária, história de trauma ou sensibilidade;
- X. Necessidade de complementação anestésica no bloqueio no nervo alveolar inferior, ultrapassando o volume padronizado para o procedimento cirúrgico;
- XI. Voluntários que apresentassem qualquer tipo de complicação operatória, pós-operatória, ou ainda, aqueles que não retornaram para o acompanhamento preconizado pelo protocolo da pesquisa ou que fizeram uso de medicação não prescrita conforme o item 4.2.4.

4.1.3 Material de consumo

- I. Biossegurança: campo cirúrgico, gaze fio 13, avental, luva cirúrgica, gorro, máscara – todos descartáveis e esterilizados – óculos de proteção;
- II. Material cirúrgico descartável: fio de sutura agulhado seda 3-0 (Ethicon – Johnson & Johnson), lâmina de bisturi número 15, seringa de 20 ml para irrigação, soro fisiológico 0,9% para irrigação;
- III. Teste elétrico: gel condutor para ultrassonografia e eletrocardiograma Med System[®], roletes de algodão, pilhas alcalinas tamanho AA;
- IV. Anestesia local: agulha longa descartável calibre 27G (Gengibras[®]), solução anestésica lidocaína 2% associada a epinefrina 1:100.000 envasada em tubetes de 1,8mL para seringa carpule (Alphacaine 1:100.000[®] - DFL Ind. Com. Lotes: 0706D34 e 0803D012, Validade:junho 2008 e março 2010, respectivamente). Cada ml do tubete anestésico contém: 20,0mg de cloridrato de lidocaína, 10,0µg de epinefrina base, 1,0mL de excipiente q.s.q. Excipientes: bissulfito de sódio, cloreto de sódio e água para injeção;
- V. Hialuronidase ou placebo: as soluções foram manipuladas e envasadas pela Apsen Farmacêutica S/A em frascos contendo 75 UTR/mL ou 1mL de água destilada para injetáveis para o grupo controle (placebo). Por ser um estudo duplo-cego, os frascos foram codificados em A ou B (Figura 4.1) e, portanto, o operador e o paciente não tinham conhecimento de qual droga estava sendo utilizada em cada sessão cirúrgica. O voluntário recebeu as duas soluções, sendo empregada a primeira de maneira aleatória, ou seja, o voluntário poderia receber na primeira cirurgia a solução A ou B, porém na segunda sessão, sempre recebeu o oposto da primeira.

Figura 4.1- Frascos codificados em A ou B

As soluções foram administradas após a aspiração de 1mL da hialuronidase ou água destilada para injeção para um tubete anestésico local que teve seu conteúdo descartado e foram aplicadas com o auxílio de uma seringa carpule com aspiração (Figura 4.2).

Figura 4.2 - Seringa carpule com tubete contendo solução A ou B

4.1.4 Material permanente

- I. Exame clínico e remoção de sutura no pós-operatório: espelho clínico, pinça clínica e tesoura;
- II. Anestesia local: seringa carpule com aspiração (Duflex[®]);
- III. Para exodontia: pinça anatômica Adson com dente, pinça Pean, pinça Backhaus, cabo para bisturi número três, descolador de Molt e Freer duplo, caneta de alta rotação, brocas cirúrgicas, elevadores Seldin, Heidbrink e apical, pinça hemostática Kelly, cureta de Lucas,

lima óssea, porta agulha Mayo Hegar, tesoura cirúrgica curva, afastador Minnesota, entre outros;

- IV. Avaliação da latência de ação e duração anestésica na gengiva: sonda exploradora número 05;
- V. Avaliação da latência de ação e duração anestésica em tecido pulpar: Pulptest Vitality Scanner Model 2006, SybronEndo[®], USA (Figura 4.3);
- VI. Avaliação de abertura bucal e edema pós-operatório: régua milimetrada flexível;
- VII. Avaliação da pressão arterial pré-operatória: Estetoscópio Littmann[®] Brand modelo Classic II S. E.(3M, U.S.A.) e Esfigmomanômetro Aneróide Durashock MOD DS44 (Wech Allyn Medical Products Corporate, U.S.A.);
- VIII. Avaliação da pressão arterial, frequência cardíaca e saturação de oxigênio trans-operatória e no pós-operatório imediato: aparelho Monitor Schollar II, Criticare System[®] (Inc, USA);

Figura 4.3- Aparelho Pulptest Vitality Scanner Model 2006, SybronEndo[®], USA

4.2 Métodos

4.2.1 Atendimento clínico – triagem

Ao receber seu primeiro atendimento clínico, foi obtido do voluntário a história médica e dental por meio de anamnese (Anexo C) e exame radiográfico com raio-x panorâmico (Figura 4.4) ou periapical, aferida a pressão sistólica e diastólica através do método auscultatório com esfignomanômetro posicionado no antebraço direito do paciente sentado e o estetoscópio adaptado sobre a artéria braquial e foi realizado teste de vitalidade pulpar nos pré-molares inferiores bilaterais com o aparelho Pulptest.

Figura 4.4- Radiografia panorâmica

Os procedimentos foram realizados no Centro de Pesquisa Clínica do Departamento de Estomatologia da FOUSP e as cirurgias ocorreram com intervalo de duas semanas entre elas e, para as mulheres, posteriormente ao período menstrual.

4.2.2 Anestesia local

Para este estudo foi realizado o bloqueio anestésico no nervo alveolar inferior com 1,8 mL da solução anestésica lidocaína 2% com epinefrina 1:100.000 concomitantemente a 1,0mL da solução hialuronidase ou água destilada para injetáveis, com intervalo de tempo máximo de 20 segundos entre a retirada da agulha após a aplicação do anestésico local para a punção e injeção da solução estudada. Para este bloqueio nervoso foi utilizada a técnica anestésica indireta para bloqueio de condução nervosa dos nervos alveolar inferior e lingual descrita por Malamed, 2001, com aspiração prévia e a cada mudança de posição da agulha. Para a anestesia do nervo bucal foi utilizada 1,0mL da solução do anestésico local acima descrito por meio da técnica infiltrativa e aspiração prévia (MALAMED, 2001).

Portanto, o total de volume anestésico utilizado em cada procedimento foi de 2,8mL e 1,0mL da solução estudada. Os pacientes que necessitaram de complementação anestésica no bloqueio anestésico do nervo alveolar inferior foram descartados do estudo.

Em cada sessão, foi realizado um procedimento cirúrgico com umas das soluções e o próximo procedimento foi realizado somente após o mínimo de 15 dias pós-operatório do primeiro procedimento. Todos os pacientes receberam as duas soluções de maneira aleatória e duplo-cego em procedimentos distintos.

4.2.3 Procedimento cirúrgico

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados seguindo os preceitos da Disciplina de Cirurgia e Traumatologia da FOUSP e constitui nas seguintes etapas: anti-sepsia intra e extra-oral, incisão em tecidos moles, sindesmotomia, osteotomia e odontosseção quando necessário, luxação, avulsão, curetagem, sutura e tamponamento.

4.2.4 Protocolo medicamentoso e cuidados pós-operatórios

Os pacientes foram medicados com antibiótico pós-operatório (amoxicilina 500mg ou clindamicina para os alérgicos, 300 mg) para evitar possíveis infecções pós-operatória que alterariam os padrões estudados (ARTEAGOITIA et al., 2005), analgésico (dipirona sódica 500 mg) (ANDRADE, 1998) e bochechos com digluconato de clorexidina 0,12% a partir do terceiro dia pós-operatório. Receberam orientações verbais em relação aos cuidados pós-operatórios, como: realizar compressas com gelo nas primeiras 24 horas, alimentação líquida/pastosa e fria no mesmo período, não realizar esforço físico, manter a área higienizada, entre outras.

4.2.5 Variáveis estudadas

Os parâmetros estudados foram: índice de sucesso anestésico, latência e duração de ação anestésica em tecido pulpar e na gengiva, abertura bucal e edema facial no segundo e sétimo pós-operatório.

4.2.5.1 tempo latência e duração anestésica na gengiva

O tempo de latência da ação anestésica na gengiva foi definido como o tempo entre a retirada da agulha após injetar a solução de hialuronidase ou placebo até a completa falta da sensibilidade ao teste mecânico realizado.

O teste consistiu na realização de um estímulo mecânica nociceptivo (picada) com sonda exploradora na gengiva inserida vestibular entre os dentes pré-molares inferiores, e considerado anestesiado quando houve a completa penetração e perfuração do periósteo pela sonda exploradora sem o paciente relatar sensibilidade (Figura 4.5). Enquanto não havia a completa perda de sensibilidade dolorosa, não se realizou a completa penetração da sonda exploradora, de modo que o paciente não foi submetido a sensações dolorosas extremas. Este teste foi realizado a cada dois minutos.

A duração de ação anestésica foi definida como o intervalo de tempo entre o início da falta de sensibilidade ao estímulo mecânico ao retorno desta sensibilidade.

Para avaliação da duração de ação anestésica na gengiva, foi realizado o mesmo teste mecânico descrito para o tempo de latência, porém agora foi realizado a cada 10 minutos, ao final da cirurgia. Lembrando sempre que as picadas não foram realizadas exatamente no mesmo ponto e sim em uma mesma região para evitar realizar os testes em tecidos inflamados, o que poderia causar uma alteração na resposta dolorosa.

Estes testes foram auxiliados com o uso de cronômetro para marcar os intervalos de tempo.

Figura 4.5- Método para avaliação da latência de ação de duração de ação anestésica na gengiva

4.2.5.2 tempo latência e duração anestésica em tecido pulpar

Para avaliação do tempo de latência e duração de ação anestésica em tecido pulpar foi realizado teste elétrico com aparelho Pulpatest SybronEndo[®] que consistia em: isolamento relativo com roletes de algodão, secagem do dente a ser testado (pré-molar) colateral ao terceiro molar a ser extraído com jato de ar, aplicação de gel condutor na sonda elétrica e na superfície de esmalte vestibular do dente, enquanto o paciente mantinha contato manual com a sonda fio terra do aparelho (Figura 4.6).

Este teste foi realizado antes da aplicação da solução anestésica juntamente com a solução estudada a fim de confirmar a vitalidade pulpar do dente pré-molar, que apresentam score ou valor basal entre 30 a 45. O aparelho possui um visor que mostra valores crescentes (de 0 a 80) de scores correspondentes ao aumento da corrente elétrica em miliamperes.

O tempo de latência de ação anestésica foi considerado como o intervalo de tempo entre a retirada da agulha após a injeção da hialuronidase ou placebo até a falta de sensibilidade do dente ao teste pulpar em seu valor máximo. O paciente foi orientado a levantar o braço esquerdo a qualquer sensibilidade e a sonda foi imediatamente afastada da superfície do dente.

A anestesia foi considerada efetiva e registrado o final do tempo de latência quando atingiu-se o valor máximo 80 do aparelho Pulptest e o paciente não relatou sensibilidade dolorosa.

Para a duração de ação anestésica em tecido pulpar foi realizado o teste elétrico da mesma maneira que descrito acima porém a cada 10 minutos e ao final do procedimento cirúrgico. Considerou-se o fim da duração de ação anestésica o intervalo de tempo entre o fim da latência até o retorno da sensibilidade ao estímulo elétrico com qualquer valor de score – não necessitando retornar ao valor basal.

Estes testes foram realizados com a utilização de cronômetro.

Figuras 4.6-Método para avaliação da latência e duração de ação anestésica em tecido pulpar

4.2.5.3 abertura bucal

Para a avaliação da influência da hialuronidase na abertura bucal pós-operatória foi realizada, através de régua milimetrada calibrada em zero, a avaliação da distância interincisal nos seguintes períodos:

- pré-operatório;
- ao segundo dia pós-operatório;
- ao sétimo dia pós-operatório.

O paciente foi orientado a abrir ao máximo sua boca (abertura natural, sem pressão bidigital) e então foi medida a distância interincisal do incisivo central inferior ao incisivo central superior (Figura 4.7) (Üstün et al., 2003).

Figura 4.7- Método para avaliação da abertura bucal

4.2.5.4 edema facial

O edema foi avaliado através de três medidas faciais com referência em cinco pontos pré-designados na face de modo horizontal e vertical sendo as seguintes medidas (Figura 4.8) (Ustün et al., 2003) :

- A – distância entre o ângulo da mandíbula a canto do olho
- B – distância do tragus ao canto da boca
- C- distância do tragus ao pogônio de tecido mole

Estas medidas foram mensuradas nos seguintes períodos:

- pré-operatório;
- ao segundo dia pós-operatório;
- ao sétimo dia pós-operatório.

Figura 4.8- Método para avaliação do edema facial

4.2.5.5 sucesso anestésico

Considerou-se como sucesso da anestesia do nervo alveolar inferior quando o teste elétrico pulpar atingiu por duas vezes seguidas o score máximo 80 e realizou-se o teste mecânico gengival sem o paciente relatar sintomatologia dolorosa ou

sensibilidade em até 16 minutos após a retirada da agulha na aplicação da solução anestésica juntamente com a solução estudada (VREELAND et al., 1989). Além de que era necessário a realização e finalização das cirurgias sem a necessidade de complementação anestésica neste bloqueio.

4.2.6 Dinâmica do experimento

Em uma primeira avaliação foram realizados: exame clínico, radiográfico e o teste elétrico nos dentes pré-molares dos voluntários, que em seguida tiveram as datas das cirurgias para exodontia de cada terceiro molar inferior (38 ou 48) programadas. Nas fases cirúrgicas foi seguida a seqüência: fase pré-anestésica, fase anestésica, fase trans-operatória, fase pós-operatória imediata; e houve o acompanhamento do voluntário na fase pós-operatória. Cada fase está detalhada abaixo.

4.2.6.1 fase pré-anestésica

A fase pré-anestésica consistiu em:

- obtenção das medidas de abertura bucal máxima e da distância dos pontos pré-definidos para avaliação do edema facial;
- adaptação dos componentes do monitor Criticare® para controle dos parâmetros cardiovasculares - pressão arterial média, pressão sistólica, pressão diastólica, frequência cardíaca e saturação de oxigênio – através de manguito

posicionado no antebraço esquerdo do paciente e dispositivo fotopletismográfico (“cutt finger” ou sensor digital) à falangeta do dedo indicador direito do paciente;

- anti-sepsia intra e extra-oral;
- colocação de campo operatório;

4.2.6.2 fase anestésica

A fase anestésica seguiu as seguintes etapas:

- preparo, codificação e escolha da substância a ser utilizada (hialuronidase ou água destilada) por um auxiliar – o cirurgião-dentista que aplica a solução e o paciente não têm conhecimento de qual solução está sendo utilizada;

- administração do anestésico local em temperatura ambiente;

- administração da solução hialuronidase ou água destilada (placebo) imediatamente após o anestésico local em temperatura ambiente;

- realização de teste elétrico pulpar em dente pré-molar e teste mecânico gengival até a completa perda de sensibilidade (período de latência de ação anestésica), realizado a cada dois minutos;

- cronometragem do intervalo de tempo entre a retirada da agulha até a perda de sensibilidade aos testes elétrico e mecânico.

4.2.6.3 fase trans-operatória

Na fase trans-operatória o tempo cirúrgico foi cronometrado e a exodontia seguiu os preceitos descritos no item 4.2.3.

4.2.6.4 fase pós-operatória imediata

Na fase pós-operatória imediata foram realizadas:

- avaliação da duração da anestesia em tecido pulpar e na gengiva até o retorno da sensibilidade aos testes – cronometragem da duração de ação anestésica;
- fim da monitoração cardiovascular.

4.2.6.5 fase pós-operatória

O paciente retornou ao segundo e sétimo dia pós-operatório para avaliação da abertura bucal e edema; e a remoção de sutura foi realizada ao sétimo dia pós-operatório.

4.2.7 Estudo estatístico

Os resultados da variável tempo de latência e duração anestésica foram submetidos ao tratamento estatístico Teste t de Student não pareado, enquanto que a abertura bucal e o edema pós-operatório foram submetidos ao Teste de Análise de Variância (ANOVA) com auxílio de Tukey (por haver distribuição normal e/ou homogênea). Já o índice de sucesso anestésico foi avaliado com o Teste Exato de Fischer. Utilizou-se o programa BioEstat4.0.

5 RESULTADOS

Os resultados demográficos mostram que a idade média da população estudada foi de 23,8 ($\pm 3,46$) anos, variando de 20 a 31 anos, sendo que 19 são do gênero feminino (76%) e 6 do gênero masculino (24%).

5.1.Tempo cirúrgico

O tempo médio (média aritmética) para a realização das exodontias do lado que utilizou a hialuronidase foi de 43,5 minutos e para o lado que utilizou água destilada foi de 40,6 minutos, conforme mostra a tabela 5.1. Os valores dos tempos cirúrgicos necessários para a realização de cada exodontia foram submetidos à análise estatística com o uso do teste “t” de Student ($p > 0,05$). A análise estatística descritiva encontra-se no apêndice A.

Tabela 5.1- Média e erro padrão do tempo de duração do procedimento cirúrgico com uso de hialuronidase e placebo – valores em minutos

Duração da exodontia	Média aritmética (erro padrão)
Hialuronidase	43,5 ($\pm$)3,2
Placebo	40,5 ($\pm$)3,3

5.2 Latência de ação anestésica na gengiva e em tecido pulpar

O período de latência média para a anestesia da gengiva e para o tecido pulpar quando se utilizou o AL (lidocaína 2% associado a epinefrina 1:100.000) e hialuronidase ou água destilada (placebo) associado ao AL encontra-se na tabela 5.2 e na figura 5.1. A análise descritiva dessas variáveis em relação às soluções empregadas está descrita no apêndice B.

Para a análise estatística, os resultados absolutos do período de latência anestésica, tanto na gengiva quanto em tecido pulpar, foram submetidos ao teste t de Student não pareado ao nível de significância de 5%. Observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos hialuronidase e placebo no tecido pulpar e o mesmo na gengiva ($p>0,05$).

Tabela 5.2 -Média aritmética e erro padrão da latência anestésica na gengiva e no tecido pulpar com uso de hialuronidase ou placebo - valores em minutos

	Gengiva	Tecido pulpar
AL + Hialuronidase	7,41 ±1,1	9,16±0,9
AL + Placebo	7,08±0,8	9,34±0,9

Figura 5.1-Histograma representativo dos valores da média aritmética e erro padrão da variável latência de ação anestésica em gengiva e tecido pulpar

5.3 Duração de ação anestésica na gengiva e em tecido pulpar

As médias aritméticas e o erro padrão da duração de ação anestésica para a gengiva e para o tecido pulpar utilizando o AL associado à hialuronidase ou ao placebo (água destilada) estão apresentados na tabela 5.3. Detalhes da análise estatística estão apresentados no apêndice C.

Tabela 5.3 - Média aritmética e erro padrão do tempo de duração anestésica na gengiva e em tecido pulpar com uso de hialuronidase ou placebo – valores em hora / minutos

	Gengiva	Tecido pulpar
AL + Hialuronidase	1 hora e 31 min (91min)±5,8min	1 hora e 17 min (77 min)±5,2min
AL + Placebo	1 hora e 20min (80min) ± 5,6min	1 hora e 27 min(87min) ±5,0min

Para o tempo de duração anestésica no tecido pulpar e na gengiva foi aplicado o Teste t de Student não pareado ao nível de significância de 5% e não houve diferença estatisticamente significativa para a duração anestésica em relação às soluções empregadas ($p>0,05$). A duração de ação em tecido pulpar apresenta uma forte tendência à significância ($p=0,059$).

Figura 5.2 - Histograma representativo dos valores da média aritmética e erro padrão da variável duração de ação anestésica em gengiva e em tecido pulpar

5.4 Índice de sucesso anestésico

O índice de sucesso anestésico para os procedimentos cirúrgicos que utilizaram anestésico local associado a hialuronidase foi de 92% enquanto para a associação com o placebo foi de 80%.

Houve apenas um indivíduo que necessitou de complementação anestésica durante o procedimento cirúrgico – no momento da luxação – e foi administrado o AL via intra-ligamentar, no grupo que utilizou a hialuronidase.

O número de insucesso anestésico está na tabela 5.4.

Tabela 5.4 - Número de falha e complementação anestésica associada a hialuronidase e placebo

	Hialuronidase	Placebo
Falha anestésica	2	5
Complementação anestésica	1	0

Para análise estatística utilizou-se o Teste Exato de Fischer ($p=0,367$) e foi observado que para o índice de sucesso, as duas soluções são semelhantes estatisticamente.

5.5 Edema pós-operatório

A média do edema pós-operatório para as soluções hialuronidase e placebo nos diferentes tempos pós-operatório (pré-operatório, segundo e sétimo dia pós-operatório) foram analisados através do Teste de Análise de Variância (ANOVA) com auxílio de Tukey ao nível de significância de 5%. Os valores da média das medidas faciais e erro padrão estão expressos na tabela 5.5 e na figura 5.3. A análise estatística descritiva está apresentada no apêndice D.

Tabela 5.5 -Média aritmética e erro padrão (valores em milímetros) de edema facial para as soluções hialuronidase e placebo

Tempo pós-operatório	Medidas da face	
	Hialuronidase	Placebo
Pré-operatório	111 $\pm$ 0,8	111 $\pm$ 0,8
Segundo dia pós-operatório	113 $\pm$ 1,0	115 $\pm$ 1,4
Sétimo dia pós-operatório	112 $\pm$ 2,0	112 $\pm$ 2,0

Observou-se que não há diferença estatisticamente significativa entre as soluções hialuronidase e placebo em decorrer do tempo pós-operatório. Porém há diferença estatisticamente significativa entre os valores pré-operatório e segundo dia pós-operatório tanto com o uso de placebo ($p<0,01$) como para a hialuronidase ($p<0,05$), e no segundo dia pós-operatório comparado com o sétimo dia pós-operatório ($p<0,05$).

Figura 5.3 - Histograma representativo dos valores da média aritmética e erro padrão da variável edema em decorrer do tempo pós-operatório

5.6 Abertura de boca no pós-operatório

A média da abertura bucal pós-operatória para as soluções hialuronidase e placebo nos diferentes tempos pós-operatórios (pré-operatório, segundo e sétimo dia pós-operatório) foram analisados através do Teste de Análise de Variância (ANOVA) com auxílio de Tukey ao nível de significância de 5%. Os valores da média das medidas de abertura bucal e erro padrão estão expressos na tabela 5.6 e figura 5.4. A análise estatística descritiva da abertura de boca pré-operatória, no segundo e sétimo dia pós-operatório com hialuronidase ou placebo está no apêndice E.

Constatou-se que não houve diferença estatística entre as soluções no decorrer do tempo pós-operatório, ou seja, a abertura bucal não está relacionada com a solução utilizada. Porém há diferença estatisticamente significativa entre os períodos pré-operatório e segundo dia pós-operatório para ambas as soluções ($p < 0,05$), portanto, a diminuição da abertura bucal ocorre no segundo dia pós-operatório para ambas as soluções.

Tabela 5.6 - Média aritmética e erro padrão da abertura bucal para as soluções hialuronidase e placebo em decorrer do tempo pós-operatório – valores em milímetros

Tempo pós-operatório	Abertura bucal	
	Hialuronidase	Placebo
Pré-operatório	52±1,2	52±1,2
Segundo dia pós-operatório	39±2,2	41±1,7
Sétimo dia pós-operatório	46±2,0	47±2,0

Figura 5.4- Histograma representativo dos valores (mm) da média aritmética e do erro padrão da variável abertura bucal em decorrer do tempo pós-operatório

6 DISCUSSÃO

O uso da hialuronidase em oftalmologia já é consagrado há muitas décadas, mas em outras áreas do corpo humano, a sua eficácia ainda não foi comprovada (KEELER et al., 1992). Ridenour et al. (2001) apresentaram o primeiro estudo com método bem delineado (controlado, parcialmente randomizado, e duplo-cego) em odontologia utilizando o protocolo oftalmológico, de injeção concomitante da enzima associada ao anestésico local. A proposição experimental destes autores de utilizarem esse protocolo para que a hialuronidase facilitasse a difusão das moléculas anestésicas e assim melhorar o índice de sucesso do bloqueio nervoso era viável (KREIL, 1995), entretanto, não conseguiram provar tal hipótese.

Os valores apresentados na literatura para o índice de sucesso com o bloqueio do nervo alveolar inferior são baixos e variam de 57 a 69% para dentes posteriores da mandíbula citado por Foster et al. (2007) e de 47 a 57% por Vreeland et al. (1989). Já Ridenour et al. (2001) que também realizaram estímulo elétrico no segundo pré-molar como em nosso estudo, obtiveram 52% no grupo sem hialuronidase e de 59% para o grupo com hialuronidase (150 UTR/mL), sem diferença significativa entre eles. Em nosso estudo o índice de sucesso anestésico com o uso da hialuronidase 75 UTR/mL associada ao anestésico local (grupo hialuronidase) teve apenas ligeiro aumento ($p>0,05$) em comparação ao grupo placebo (anestésico local e veículo da hialuronidase), 92% *versus* 80%, respectivamente. Os grupos hialuronidase e placebo também foram similares ($p>0,05$) quanto à duração de ação na polpa (77 *versus* 87 min, respectivamente) e na gengiva (91 *versus* 80 min, respectivamente) (fig. 5.2 e tabela 5.3).

Neste estudo, o grupo placebo (sem hialuronidase) apresentou um índice médio de sucesso de anestesia também ligeiramente mais elevado que o descrito na literatura (Foster et al., 2007; Ridenour et al., 2001; Vreeland et al., 1989) e, provavelmente, a diferença possa ser atribuída à meticulosidade na técnica anestésica. Alguns autores relatam que os estudantes de odontologia poderiam utilizar a hialuronidase para compensar a pouca experiência desses para a realização do bloqueio pterigomandibular, o que aumentaria o sucesso da obtenção do bloqueio nervoso (BOWMAN et al., 1997; MANTOVANI; BRYANT; NICHOLSON, 2001). Entretanto, com as concentrações de hialuronidase utilizadas tanto em nosso estudo (75 UTR/mL) quanto por Ridenour et al. (2001) (150 UTR/mL), ainda não há evidência de que seu uso concomitante trará vantagens, no entanto, outras concentrações ainda poderão ser testadas antes de sua indicação clínica.

A concentração de 150 UTR/mL de hialuronidase utilizada por Ridenour et al. (2001) foi determinada aleatoriamente pois não haviam referências anteriores em odontologia. Mesmo em anestesia oftalmológica, os valores de referência encontrados na literatura variam desde 3,75 a 300 UTR/mL (DEMPSEY; BARRETT; KIRBY, 1997; KALLIO; PALOHEIMO; MAUNUKSELA, 2000).

Deve-se ressaltar que para os bloqueios nervosos em oftalmologia há necessidade de uma maior concentração da enzima para a difusão do anestésico local devido ao caráter fibroso dos tecidos perioculares, embora o globo ocular apresente a vantagem de estar localizado na cavidade orbital (local mais fechado) que dificulta a difusão do anestésico local para outros tecidos (KEELER et al., 1992).

A constituição do tecido na região do nervo alveolar inferior onde é injetado o anestésico no bloqueio pterigomandibular difere daquela onde são realizados os bloqueios peribulbar e retrobulbar, devido à região da fossa pterigomandibular ser

mais aberta e muito vascularizada, como em outros leitos periféricos que apresentam tecido conjuntivo menos fibroso e o muscular, além do nervoso (KEELER et al., 1992), o que facilita a difusão do anestésico local.

Logo, surgiu a hipótese de que provavelmente os resultados desfavoráveis obtidos por Ridenour et al. (2001) teriam ocorrido devido, primeiramente, à alta concentração da enzima (150 UTR/mL) e, em segundo lugar, devido ao momento em que foi injetada, concomitante ao anestésico local. Como no início da anestesia a quantidade de moléculas de anestésico local ainda está elevada no tecido, a alta concentração da enzima pode ter aumentado muito a difusão do anestésico e induzido os efeitos adversos, como dor e trismo. Este é mais um motivo porque testamos uma concentração mais baixa da enzima para poder ser injetada concomitantemente ao anestésico local.

Apesar de que se comparada à literatura oftalmológica, o valor de 150 UTR/mL não seja dos mais altos, mas talvez o seja para a técnica pterigomandibular. Desse modo, a determinação da concentração da enzima neste estudo também foi empírica, utilizando a metade da utilizada por Ridenour et al. (2001), semelhante à Horliana et al. (2008) que obteve resultados de eficácia favoráveis, porém diferindo no momento da injeção da enzima.

Uma das conclusões do trabalho de Ridenour et al. (2001) foi o dano tecidual induzido pela hialuronidase pela observação de trismo no pós-operatório, que levou os autores a contra-indicarem seu uso. Entretanto, o trismo foi avaliado apenas através da avaliação subjetiva informada pelo paciente por telefone, sem mensuração quantitativa da abertura bucal, o que torna a contra-indicação do uso da enzima precipitada e evidenciava a necessidade de mais pesquisas com outra metodologia.

Pelo exposto, os resultados anteriores na Odontologia e em outras áreas da medicina são conflitantes em relação aos benefícios da hialuronidase. Embora o estudo de Horliana et al. (2008) tenha apresentado melhora no tempo de duração da ação anestésica com a hialuronidase, não avaliou a ocorrência de trismo por método quantitativo.

Por ainda haver dúvida sobre a ocorrência de trismo pós-operatório com o uso de hialuronidase em menor concentração, foi avaliada a capacidade de abertura bucal através da medida da distância interincisal de dentes anteriores (superior e inferior) nos pacientes, utilizando o método descrito por Üstün et al. (2003). Pelos nossos resultados (Fig. 5.4 e tab. 5.6), houve diminuição ($p < 0,05$) da abertura bucal (trismo) no pós-operatório ao longo do tempo, porém não diferiu entre o grupo hialuronidase e placebo ($p > 0,05$). Houve diferença significativa entre as medidas do pré-operatório (ambos grupos com 52 mm) e a do segundo dia de pós-operatório (39 mm *versus* 41mm, respectivamente). Houve retorno aos valores basais no sétimo dia pós-operatório (46 *versus* 47mm, respectivamente) em ambos os grupos ($p > 0,05$), indicando recuperação de normalidade. Portanto, a diminuição da abertura bucal poderia estar relacionada ao trauma cirúrgico e, segundo Okeson (2000), a uma contração protetora dos músculos do sistema estomatognático na tentativa de evitar maior trauma à região lesionada.

A enzima hialuronidase também é utilizada com a finalidade de promover a reabsorção do excesso de fluido dos tecidos como em cirurgia ortopédica, na dermatologia e ginecologia (FARR et al., 1997). Em odontologia, Shuttee (1962) e Young (1955) aplicaram a hialuronidase no local das cirurgias e observaram redução do edema pós-operatório. Apesar de haver diferença na técnica utilizada para administração da enzima na região a ser operada (infiltrativa ao redor da ferida

cirúrgica ao invés de bloqueio pterigomandibular), são os únicos trabalhos em odontologia que correlacionam edema e hialuronidase ocorrendo na mesma região anatômica da face analisada em nosso estudo.

Neste estudo a hialuronidase não causou redução significativa do edema pós-operatório (tab. 5.5), apesar de que o grupo experimental apresentou valores de edema ligeiramente menores no segundo dia pós-operatório (113 cm) comparado ao placebo (115 cm), levando-se em conta que os valores pré-operatórios para ambos os grupos foi de 111 cm.

Com estes resultados de pós-operatórios observa-se que a hialuronidase não apresentou vantagens quando aplicada nessas condições experimentais. Entretanto, para esse parâmetro do pós-operatório há necessidade de aumentar a amostra, porque apesar de ser uma análise quantitativa de valores médios da distância entre pontos da face, a determinação da localização dos pontos na face pode sofrer influência subjetiva do operador (mesmo com um operador) nos tempos analisados. Outros estudos podem ser realizados para avaliar a influência da hialuronidase no edema pós-operatório, porém aplicando-a na região submetida à cirurgia (ao redor da ferida cirúrgica), diferente do local de aplicação estudado aqui, pois existem dois trabalhos não controlados (SHUTTE, 1962; YOUNG, 1955), que avaliaram o edema facial apenas por observação clínica da face.

O uso de aditivos associados ao AL tem sido amplamente estudado nas áreas médicas e na Odontologia com a intenção de diminuir o tempo de latência de ação anestésica. Destes, a hialuronidase é mais utilizada em Oftalmologia para a diminuição do tempo de latência de ação anestésica pelo seu efeito difusor nos tecidos através da hidrólise do ácido hialurônico no tecido intersticial (SOARES et al., 2002). Em muitos estudos o bicarbonato de sódio é adicionado ao anestésico

local na intenção de diminuir o período de latência, pois o aumento do pH tecidual o tornaria mais próximo do pKa dos anestésicos locais facilitando o seu início da ação por favorecer maior formação de base livre (não ionizada) (BARR et al., 1995; SARVELA; PALOHEIMO; NIKKI, 1994).

A hialuronidase sofre influência do pH tecidual (FARR et al., 1997), porém outro estudo encontrou que a hialuronidase é efetiva mesmo sem ajustes de pH (DEMPSEY; BARRETT; KIRBY, 1997). Em nosso estudo foi utilizada a hialuronidase bovina que apresenta ação em pH de até 7,4, que é o pH tecidual normal (BARR et al., 1995), portanto, não houve necessidade de tamponamento através do uso de bicarbonato de sódio.

Nas condições experimentais deste estudo, a hialuronidase não influenciou ($p>0,05$) o tempo de latência de ação anestésica no tecido pulpar (9,16 minutos) em relação ao placebo (9,34 minutos) e houve diminuição de 28 segundos, que é de pouca importância clínica (tab. 5.2). Em tecido gengival, a latência de ação foi ligeiramente ($p>0,05$) maior com a hialuronidase (7,41 min) comparada ao placebo (7,08 min) de apenas 33 segundos, que também não é expressivo clinicamente (tab. 5.2). Provavelmente a hialuronidase não tenha influenciado este parâmetro devido a sua própria latência de ação de alguns minutos, não havendo tempo hábil para romper barreiras anatômicas e acelerar o acesso de moléculas de anestésico local.

Em tecido pulpar, como já era esperado (BRYDON, 1995), houve tendência à diminuição ($p>0,05$) da duração de ação (fig.5.2), em torno de 10 minutos em relação ao grupo placebo, o que pode ser justificado pelo efeito difusor da hialuronidase, entretanto, houve tempo suficiente de duração da anestesia para as cirurgias fossem realizadas e finalizadas sem a necessidade de complementação anestésica, com exceção de uma que recebeu complementação anestésica (tab.

5.4) pela via intraligamentar, demonstrando que houve a profundidade anestésica necessária para a realização de procedimentos invasivos. O mesmo foi observado por Brydon (1995) que apesar da ligeira diminuição da duração anestésica com a hialuronidase, a anestesia foi suficiente para a realização de todos os procedimentos cirúrgicos oftalmológicos. O período de duração de ação anestésica no tecido pulpar tanto para a solução placebo quanto para a hialuronidase foi ligeiramente maior que o descrito na literatura, em torno de 60 minutos citado por Malamed (2001), provavelmente devido à diferença de metodologia.

Para que o trauma cirúrgico fosse semelhante em ambos os grupos, foram selecionados indivíduos que apresentassem através de exame radiográfico terceiros molares em posição simétrica bilateralmente, de preferência classe I ou II, posição A ou B (mésio-angulado ou vertical), segundo Pell e Gregory (1993). Mesmo assim, foi necessário descartar dois casos, que não compõe a amostra desse estudo, pois o tempo cirúrgico diferiu muito de um lado para o outro devido às dificuldades técnicas no trans-operatório. Na amostra estudada a média dos tempos cirúrgicos do grupo experimental não diferiu significativamente (tab. 5.1) quando comparada ao seu controle, sendo a diferença de apenas 3 minutos, o que clinicamente é insignificante. Isso evidencia que esse fator pouco influenciou na diferença de trismo ou edema entre os grupos, e que se houvesse diferença seria pelas soluções utilizadas ou tempos analisados do pós-operatório.

É importante salientar que para este estudo foram realizadas exodontias de terceiros molares com a utilização da quantidade padronizada de 1,8 mL de anestésico local para o bloqueio do nervo alveolar inferior e 1 ml para o nervo bucal. A necessidade de complementação anestésica ocorreu apenas em uma cirurgia e não foi realizada no bloqueio pterigomandibular, utilizou-se injeção interligamentar.

Isto demonstra que quantidades mínimas de anestésicos locais podem ser empregadas, desde que a técnica seja bem realizada e o anestésico local seja injetado próximo do nervo a ser anestesiado, diminuindo assim o risco de complicações sistêmicas (VASCONCELLOS; VASCONCELLOS; GENUÍ, 2008).

Popitz-Bergez et al. (1995) demonstraram que quantidades mínimas de AL são suficientes para que ocorra o bloqueio nervoso, apenas 1,6% da lidocaína injetada e que o restante pode se difundir para os tecidos adjacentes. Isto nos leva a concluir que o volume anestésico empregado na clínica deveria ser reavaliado, pois muitas vezes o período de latência de ação anestésica deva ser respeitado, ao invés de realizar complementação anestésica local, aumentando a possibilidade de efeitos tóxicos sistêmicos, principalmente se não estiver associado ao vasoconstritor.

Para a padronização da obtenção do bloqueio nervoso foi utilizada a técnica direta do bloqueio pterigomandibular para todos os casos para tentar manter a mesma distância do feixe vâsculo-nervoso, para evitar mais um fator de variação. Tanto as cirurgias quanto as anestésias locais foram realizadas pelo mesmo operador, evitando variações em relação à habilidade manual do profissional.

Os procedimentos cirúrgicos seguiram o mesmo padrão para os dois lados, pois como os dentes apresentavam a mesma posição anatômica, as fases cirúrgicas que foram realizadas de um lado também foram realizadas do outro, diminuindo ao mínimo as diferenças do trauma cirúrgico (Al-Khateeb; Nusair, 2008). O método utilizado para a escolha da solução a ser empregada (hialuronidase ou placebo) foi duplo-cego e parcialmente randomizado já que a primeira solução a ser aplicada era escolhida de maneira aleatória (jogar uma moeda), porém a segunda sempre a restante. Assim, cada indivíduo foi controle dele mesmo, evitando diferenças

individuais como alterações anatômicas e vascularização da região, entre outras características que poderiam influenciar os resultados (BARR et al., 1995).

A hialuronidase por apresentar um efeito difusor poderia aumentar a difusão do AL não apenas para o tecido nervoso como também para o tecido vascular, aumentando a absorção vascular e a toxicidade do AL. Porém, alguns estudos demonstraram que mesmo com essa possibilidade de aumentar a absorção vascular, a hialuronidase não alterou a concentração plasmática (Cmax) do anestésico local e que essa concentração é muito menor que a dose tóxica do mesmo, porém a hialuronidase alterou a latência desse pico de concentração (Tmax) o que indica que a hialuronidase acelera a difusão do anestésica para os tecidos adjacentes (NATHAN et al., 1996).

Apesar de haver casos reportados na literatura do caráter antigênico da hialuronidase, a incidência é baixa sendo de aproximadamente um a cada 2.000 procedimentos de anestesia retrobulbares (QUHILL; BOWLING, PACKARD, 2004). Outros autores, que possuem uma larga experiência com o uso dessa enzima, relataram que em 6.000 casos não ocorreu nenhum efeito alérgico (NICOLL et al., 1986). Neste estudo foram realizadas 25 cirurgias com a aplicação da hialuronidase e não foi observado ou relatado pelos pacientes qualquer efeito alérgico ou outras complicações relacionadas com seu uso.

De posse dos resultados obtidos nesta pesquisa clínica, a hialuronidase não apresentou vantagens quando aplicada nessas condições experimentais, porém, este trabalho abriu um campo com novas possibilidades que podem ser testadas para melhorar a eficácia anestésica e contribuir com a Odontologia.

7 CONCLUSÕES

Pode-se concluir que a hialuronidase não alterou: o índice de sucesso no bloqueio pterigomandibular; a latência e a duração de ação anestésica; a abertura bucal e o edema facial após a exodontia de terceiros molares inferiores.

Portanto, nas condições experimentais deste estudo, a hialuronidase aplicada concomitante ao anestésico local na concentração de 75UTR/ml não melhorou a eficácia anestésica e não agravou as seqüelas pós-operatórias relatadas na literatura.

REFERÊNCIAS¹

Al-Khateeb TH, Nusair Y. Effect of the proteolytic enzyme serrapeptase on swelling, pain and trismus after surgical extraction of mandibular third molar. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2008;37:264-8.

Andrade ED. Terapêutica medicamentosa em odontologia : procedimentos clínicos e uso de medicamentos nas principais situações da prática odontológica. 1^a ed. São Paulo: Artes Médicas;2000.

Arteagoitia I, Diez A, Barbier L, Santamaría G, Santamaría J. Efficacy of amoxicillin/clavulin acid in preventing infectious and inflammatory complications following impacted mandibular third molar extraction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005;100:e11-e18.

Aslam S, Sarjer SJ, Tran-Dang M, Yuen L, Niskopoulou M, Thomas D, et al. Effect of hyaluronidase on ocular motility and eyelid function in sub-Tenon's anaesthesia: randomised controlled trial. *Eye* 2006;20:579-82.

Barr J, Kirkpatrick N, Dick A, Leonard L, Hawksworth G, Noble DW. Effects of adrenaline and hyaluronidase on plasma concentrations of lidocaine and bupivacaine after peribulbar anaesthesia. *Br J Anaesth* 1995;75:692-7.

Bowman RJC, Newman DK, Richardoson EC, Callear AB, Flanagan DW. Is hyaluronidase helpful for peribulbar anaesthesia? *Eye* 1997;11:385-8.

Brydon CW. An evaluation of two concentration of hyaluronidase for supplementation of peribulbar anaesthesia. *Anaesth* 1995;50:998-1000.

Dagher FB, Yared GM, Machtou P. An evaluation of 2% lidocaine with different concentration of epinephrine for inferior alveolar nerve block. *J Endodontics* 1997;23(3):178-80.

Dempsey GA, Barrett PJ, Kirby IJ. Hyaluronidase and peribulbar block. *Br J Anaesth* 1997;78:671-4.

¹ De acordo com Estilo Vancouver. Abreviatura de periódicos segundo base de dados MEDLINE.

Deschrevel B, Lenormand H, Tranhepain F, Levasseur N, Astériou T, Vincent JC. Hyaluronidase activity is modulated by complexing with various polyelectrolytes including hyaluronan. *Matrix Biol* 2008;27:242-53.

Farr C, Menzel J, Seeberger J, Schweigle B. Clinical pharmacology and possible applications of hyaluronidase with reference to Hylase "Dessau". *Wien Med Wochenschr* 1997;147(15):347-55.

Foster W, Drum M, Reader A, Beck M. Anesthetic efficacy of buccal and lingual infiltrations of lidocaine following an inferior alveolar nerve block in mandibular posterior teeth. *Anesth Prog* 2007;54:163-9

Hamada S, Devys JM, Xuan TH, Ganem S, Sahel JA, Hérin F. Role of hyaluronidase in diplopia after peribulbar anesthesia for cataract surgery. *Ophthalmology* 2005;112(5):879-82.

Horliana ACRT, Brito MAD, Perez FEG, Simonetti MPB, Rocha RG, Borsatti MA. Hyaluronidase increases the duration of mepivacaine in inferior alveolar nerve blocks. *J Oral Maxillofac Surg* 2008;66:286-90.

Hynes WL, Walton SL. Hyaluronidases of gram-positive bacteria. *FEMS Microbiol Lett* 2000;183(2):201-7.

Junqueira LCU, Carneiro J. *Biologia celular e molecular*. 7^aed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.

Kallio H, Paloheimo M, Maunuksela EL. Hyaluronidase as an adjuvant in bupivacaine-lidocaine mixture for retrobulbar/peribulbar block. *Anesth Analg* 2000;91:934-7.

Keeler JF, Simpson KH, Ellis FR, Kay SP. Effect of addition of hyaluronidase to bupivacaine during auxiliary brachial plexus block. *Br J Anaesth* 1992;68:68-71.

Kreil G. Hyaluronidase – a group of neglected enzymes. *Protein Sci* 1995;4:1666-9.

Malamed SF. *Manual de anestesia local*. 4^aed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.

Mantovani C, Bryant AE, Nicholson G. Efficacy of varying concentrations of hyaluronidase in peribulbar anaesthesia. *Br J Anaesth* 2001; 86:876-8.

Menzel EJ, Farr C. Hyaluronidase and its substrate hyaluronan: biochemistry, biological activities and therapeutic uses. *Cancer Lett* 1998;131:3-11.

Meyer K. Hyaluronidases. In: Boyer PD. *The enzymes*. New York: Academic Press; 1971. cap. 3, p. 307-20.

Nathan N, Benrhaïem M, Lotfi H, Debord J, Rigaud G, Lachatre G, et al. The role of hyaluronidase on lidocaine and bupivacaine pharmacokinetics after peribulbar blockade. *Anaesth Analg* 1996;82:1060-4.

Nicoll JM, Treunen B, Acharya PA, Ahlen K, James M. Retrobulbar anaesthesia: the role of hyaluronidase. *Anesth Analg* 1986;65:1324-8.

Okeson JP. *Tratamento das desordens temporomandibulares e oclusão*. 4ª ed. São Paulo: Artes Médicas; 2000.

Pell GJ, Gregory BT. Impacted mandibular third molar : classification and modified techniques for removal. *Dent Digest* 1993;39:330-8.

Popitz-Bergez FA, Leeson S, Strichartz GR, Thalhammer JG. Relation between functional deficit and intraneural local anesthetic during peripheral nerve block. *Anesthesiology* 1995;83(3):583-92.

Quhill F, Bowling B, Packard R. Hyaluronidase allergy after peribulbar anesthesia with orbital inflammation. *J Cataract Refract Surg* 2004;30:916-7

Ridenour S, Reader A, Beck M, Weaver J. Anesthetic efficacy of a combination of hyaluronidase and lidocaine with epinephrine in alveolar nerve block. *Anesth Prog* 2001;48:9-15.

Ross MH, Reith EJ, Romrell LJ. *Histologia: texto e atlas*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editorial Médica Panamericana; 1993.

Salmen S. *Inhibitors of bacterial and mammalian hyaluronidase: synthesis and structure-activity relationships*. Regensburg: University of Regensburg; 2003.

Sarvela PJ, Paloheimo MPJ, Nikki PH. Comparison of pH-Adjusted bupivacaine 0.75% and a mixture of bupivacaine 0.75% and lidocaine 2%, both with hyaluronidase, in day-case cataract surgery regional anesthesia. *Anesth Analg* 1994;79:35-9.

Shuttee TS. Hyaluronidase in relief of postoperative trismus, swelling and pain. *OS, OM & OP* 1962;15(3):114-20.

Sisk AL. Vasoconstrictors in local anesthesia for dentistry. *Anesth Prog* 1992;39:187-93.

Soares LF, Helayel PE, Conceição DB, Oliveira Filho GR. Bloqueio peribulbar com a associação da mistura enantiomérica (S75-R25) a 0,5% e lidocaína a 2%: efeitos da adição de hialuronidase. *Rev Bras Anaesthesiol* 2002;52(4):420-5.

Üstün Y, Erdogan O, Esen E, Karsli ED. Comparison of the effects of 2 doses of methylprednisolone on pain, swelling, and trismus after third molar surgery. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003;96:535-9.

Vasconcellos RJH, Vasconcelos BCE, Genú PR. Influence of local anesthetics with adrenalina 1:100.000 in basic vital constants during third molar surgery. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2008;13(7):E432-7.

Vreeland DL, Realdier A, Beck M, Meyers W, Weaver J. An evaluation of volumes and concentrations of lidocaine in human inferior alveolar nerve block. *J Endod* 1989;15(1):6-12.

Watson D. Hyaluronidase. *Br J Anaesth* 1993;71(3):422-5.

Weigel PH, Hascall VC, Tammi M. Hyaluronan Synthases. *J Biol Chem* 1997; 272(22):13997-4000.

Wolf RA, Chaung LY, O'Hara D, Smith TW, Muller JE. The serum kinetics of bovine testicular hyaluronidase in dogs, rats and humans. *J Pharmacol Exp Ther* 1982;222:331-7.

Young HE, Kingsbury BC. Hyaluronidase for prevention of edema after removal of impacted mandibular third molars. *J Am Dent Ass* 1955;50:418-421.

APÊNDICE A – Estatística descritiva dos tempos cirúrgicos

	Hialuronidase	Placebo
Tamanho da amostra	25	25
Mínimo	19	13
Máximo	75	60
Amplitude total	56	47
Mediana	45	41
Primeiro quartil	31	25
Terceiro quartil	50	58
Desvio interquartilico	19	33
Média aritmética	43,5	40,6
Variância	250,4	279
Desvio padrão	15,8	16,7
Erro padrão	3,2	3,3
Coeficiente de variação	36,4%	41,2%
Assimetria (g1)	0,0094	-0,28
Curtose (g2)	-0,68	-1,1
Média harmônica	37	32
N (média harmônica)	25	25
Média geométrica	40,4	36,5
N (média geométrica)	25	25
Variância (geom)	1,0	1,1
Desvio padrão (geom)	1,5	1,6

APÊNDICE B

Estatística descritiva da latência de ação para a gengiva e em tecido pulpar

	Gengiva		Tecido pulpar	
	Hialuronidase	Placebo	Hialuronidase	Placebo
Tamanho da amostra	25	25	25	25
Mínimo	60	110	116	140
Máximo	1080	1024	1121	1121
Amplitude total	1020	914	1005	981
Mediana	337	420	528	480
Primeiro quartil	240	244	200	328
Terceiro quartil	600	550	670	730
Desvio interquartílico	360	306	370	402
Média aritmética	445,2	424,8	526,8	536,7
Variância	93984,1	58576,2	82669	71433
Desvio padrão	306,6	242	287,5	267,3
Erro padrão	61,3	48,4	57,5	53,4
Coeficiente de variação	68,85%	56,9%	54,58%	49,8%
Assimetria (g1)	0,9	0,7	0,6	0,4
Curtose (g2)	-0,2	-0,1	-0,5	-0,6
Média harmônica	252,8	293,3	369,7	398,2
N (média harmônica)	25	25	25	25
Média geométrica	346,4	356,7	447,8	467,7
N (média geométrica)	25	25	25	25
Variância (geom)	1,3	1,2	1,2	1,1
Desvio padrão (geom)	2,2	1,9	1,8	1,7

APENDICE C

Estatística descritiva da duração de ação anestésica na gengiva e no tecido pulpar

	Gengiva		Tecido pulpar	
	Hialuronidase	Placebo	Hialuronidase	Placebo
Tamanho da amostra	25	25	25	25
Mínimo	54	47	48	47
Máximo	160	160	167	137
Amplitude total	112	119	119	90
Mediana	90	75	73	88
Primeiro quartil	67	64	60	60
Terceiro quartil	104	88	90	100
Desvio interquartílico	37	24	30	40
Média aritmética	91,3	80,6	77,3	87,8
Variância	851	797,3	691,1	631,1
Desvio padrão	29,2	28,2	26,3	25,1
Erro padrão	5,8	5,6	5,2	5
Coeficiente de variação	32,0	35,0%	34%	28,6%
Assimetria (g1)	0,9	1,52	1,7	0,2
Curtose (g2)	0,4	2,64	4,5	-0,9
Média harmônica	83,4	73,3	70,7	80,7
N (média harmônica)	25	25	25	25
Média geométrica	87,1	76,6	73,7	84,2
N (média geométrica)	25	25	25	25
Variância (geom)	1,04	1,0	1,0	1,0
Desvio padrão (geom)	1,3	1,4	1,4	1,3

APENDICE D

Estatística descritiva do edema pós-operatório para as soluções hialuronidase e placebo

	Pré-operatório Hialuronidase	Pré-operatória Placebo	Segundo dia pós- operatório		Sétimo dia pós- operatório	
			Hialuronidase	Placebo	Hialuronidase	Placebo
Tamanho da amostra	25	25	25	25	25	25
Mínimo	105	105	105	105	105	105
Máximo	122	122	128	135	118	122
Amplitude total	17	17	23	30	13	17
Mediana	111	111	112	113	111	111
Primeiro quartil	108	108	110	110	110	109
Terceiro quartil	114	114	117	116	113	115
Desvio interquartilico	5,5	5,5	6,5	5,5	3	6
Média aritmética	111	111	113	115	112	112
Variância	17	17	26	46	12	18
Desvio padrão	4	4	5	7	3,4	4,2
Erro padrão	0,8	0,8	1	1,4	0,7	0,9
Coefficiente de variação	3,70%	3,70%	4,5%	5,9%	3,0%	3,85
Assimetria (g1)	0,6	0,6	1	1,6	0,1	0,4
Curtose (g2)	0,5	0,5	1,7	3,1	-0,06	-0,1
Média harmônica	111	111	113	114	111	112
N (média harmônica)	25	25	25	25	25	25
Média geométrica	111	111	113	114	112	112
N (média geométrica)	25	25	25	25	25	25
Variância (geom)	1	1	1	1	1	1
Desvio padrão (geom)	1,0	1,0	1,0	1	1	1

APENDICE E Análise descritiva da abertura de boca

	Pré-operatória	Segundo dia pós-operatório		Sétimo dia pós-operatório	
		Hialuronidase	Placebo	Hialuronidase	Placebo
Tamanho da amostra	25	25	25	25	25
Mínimo	41	20	24	21	22
Máximo	65	55	54	57	61
Amplitude total	24	35	30	36	39
Mediana	51	40	41	47	50
Primeiro quartil	50	34	35	42	41
Terceiro quartil	56	49	49	53	53
Desvio interquartilico	6	15	14	11	12
Média aritmética	52,5	39,1	41,2	45,7	47
Variância	37	121,6	7,6	96,1	96,8
Desvio padrão	6,1	11	8,7	9,8	9,8
Erro padrão	1,2	2,2	1,7	2,0	2,0
Coeficiente de variação	11,6%	28,1%	21,1%	21,4%	20,9%
Assimetria (g1)	0,2	-0,3	-0,2	-1,2	-0,8
Curtose (g2)	-0,2	-1,0	-1,0	1,0	0,2
Média harmônica	51,8	35,6	39,2	42,8	44,3
N (média harmônica)	25	25	25	25	25
Média geométrica	52,1	37,4	40,2	44,4	45,8
N (média geométrica)	25	25	25	25	25
Variância (geom)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Desvio padrão (geom)	1,1	1,4	1,2	1,3	1,3

ANEXO A – Parecer do Comitê de ética em Pesquisa da FOU SP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA**PARECER nº 54/03**
Protocolo 17/03

Com base em parecer de relator, o Comitê de Ética em Pesquisa, **APROVOU** o protocolo de pesquisa *"Avaliação do uso da hialuronidase, administrada isoladamente sobre a duração de ação anestésica e efeitos cardiovasculares após bloqueio do nervo alveolar inferior com anestésicos locais associados a epinefrina"* de responsabilidade da Professora Doutora **Maria Aparecida Borsatti**.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 28 de março de 2003

PROF.ª DR.ª ROSA HELENA MIRANDA GRANDE
COORDENADORA DO CEP/FOUSP

ANEXO B – Termo de Consentimento Livre Esclarecido por Escrito

Título: Avaliação da latência e duração anestésica sob influência da hialuronidase injetada concomitantemente no bloqueio pterigomandibular e sua influência na abertura de boca e edema pós-operatório.

Candidata: Mayara Aguiar Dias de Brito

Orientadora: Maria Aparecida Borsatti

1. Justificativa da pesquisa

Os anestésicos locais (AL) em uso na odontologia apresentam toxicidade se utilizados em alta dose e concentração. Isso pode ocorrer em procedimentos de longa duração e que necessitem de profundidade anestésica, como em extração de dentes inclusos, quando há necessidade de complementação anestésica, aumentando assim a quantidade de anestésico local injetado. O uso de hialuronidase, que é um agente difusor para o anestésico local, quando utilizado concomitante a esse aumenta a duração do efeito anestésico na área oftalmológica, e na odontologia aumentou a duração da anestesia na gengiva e no dente (polpa) quando injetado posteriormente ao AL. Por essa razão, injetaremos essa mesma dose de hialuronidase após a injeção do AL, para verificar se diminui o tempo para o efeito anestésico e aumenta sua duração, além de acompanharmos os efeitos no segundo e sétimo dia pós-operatório.

2. Objetivo

Verificar se a hialuronidase é capaz de diminuir o tempo para o efeito anestésico e prolongar a duração de ação anestésica quando injetada concomitantemente ao anestésico local no bloqueio pterigomandibular e avaliar sua influência na abertura bucal e edema pós-operatório

3. Material e métodos

a. Seleção de voluntário

Serão selecionados 20 pacientes com saúde normal, entre 18 e 35 anos. Deverão apresentar necessidade de extração de dois terceiros molares inferiores (dente do ciso), em posição semelhante entre eles.

Os voluntários participantes da pesquisa não deverão fazer uso de qualquer medicação no período 15 dias antes da cirurgia ou entre as consultas (usar só os medicamentos indicados pela cirurgia dentista no pós-operatório). Não serão aceitas gestantes ou pacientes alérgicos a qualquer medicamento utilizado na pesquisa.

b. Avaliação do início e duração da anestesia local

Para se obter o tempo de demora para começar a anestesia e a duração do efeito anestésico na gengiva, o paciente comunicará o momento que não sente mais o toque do instrumento na gengiva.

Para se obter o tempo de demora para começar o tempo de anestesia e a duração anestésica no dente (polpa) será realizado teste elétrico por meio de um aparelho que possui uma ponta (sonda) que encosta no dente e provoca sensibilidade no dente. Esse teste será realizado a cada 2 minutos no início e após a perda de sensibilidade, a cada 10 minutos até o retorno da sensibilidade.

c. Avaliação da abertura bucal e edema facial

A avaliação da abertura bucal será realizada antes da injeção do AL e no segundo e sétimo dia após a cirurgia, através de régua milimetrada. O edema facial será realizado através da medida por régua milimetrada em diferentes pontos da face e será realizado antes da injeção do AL no dia da extração, no segundo e sétimo dia pós-operatório, quando será realizada a remoção dos pontos (sutura).

d. Drogas utilizadas

1. Cloridrato de lidocaína 2% associada a adrenalina 1:100.000
2. Hialuronidase 75UTR/mL
3. Água destilada para injetáveis

OBS: a hialuronidase e a água destilada para injetáveis receberão códigos no frasco para identificação que não será divulgado para o paciente e para o pesquisador/operador até o término da pesquisa (estudo duplo-cego).

4. Local da realização do experimento

Consultório Odontológico no Centro de Pesquisa Clínica do Departamento de Estomatologia.

5. Benefícios do experimento

Realização de 2 cirurgias de terceiros molares com possível efeito anestésico prolongado, reduzindo a dose de anestésico local. Espera-se que a pesquisa trará benefícios para a odontologia por fornecer informações e comprová-las por evidências clínicas da possibilidade de um protocolo de tratamento indolor para o paciente.

6. Desconforto ou risco esperado

Inconveniente de aguardar o término da anestesia.

Inconveniente de retornar ao segundo dia pós-operatório.

Poderá ocorrer diminuição transitória da abertura bucal.

7. Informações

O voluntário terá garantia de que receberá respostas a qualquer pergunta ou esclarecimento dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados a pesquisa.

8. Retirada do consentimento

O voluntário tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar da pesquisa, e ainda assim receber os benefícios do estudo.

9. Os pesquisadores assumem o compromisso:

De proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a vontade do indivíduo de permanecer na pesquisa.

10. Sigilo

Toda e qualquer informação obtida na pesquisa será confidencial.

11. Disponibilidade

Estaremos à disposição a qualquer informação ou queixa por parte do paciente, podendo telefonar para os seguintes números: 3091-7893 ou 3039-9402 com Profa Dra. Maria Aparecida Borsatti.

Consentimento pós-informação

Eu, _____, RG _____ certifico que tendo lido as informações e sido suficientemente esclarecido (a) sobre todos os itens pelas pesquisadoras Profa Dra Maria Aparecida Borsatti e Mayara A. D. de Brito sobre a pesquisa "Avaliação da latência e duração anestésica sob influência da hialuronidase injetada concomitantemente no bloqueio pterigomandibular e sua influência na abertura de boca e edema pós-operatório" estou plenamente de acordo com a realização do experimento. Assim, autorizo a execução do trabalho de pesquisa exposto acima, com minha colaboração espontânea.

Assinatura do paciente: _____

Assinatura da testemunha: _____

Profa Dra Maria Aparecida Borsatti _____

CROSP _____

CD. Mayara Aguilar Dias de Brito _____

CROSP _____

ANEXO C – Ficha de Anamnese

Nome: _____ RG _____
 Endereço: _____
 CEP _____ Bairro _____ Tel: _____
 Data Nasc: ____/____/____ Estado civil _____ Profissão _____

Questionário

1. Está sentindo alguma dor ou desconforto? _____
2. Está fazendo tratamento médico? _____
3. Está fazendo uso de medicamento? _____
4. Apresenta alergia a medicamentos ou alimentos? _____
5. Já se submeteu a anestesia local? _____
6. Apresentou alguma reação a anestesia? _____
7. Já se submeteu a cirurgia ou hospitalização? _____
8. Já recebeu transfusão de sangue? _____
9. Já teve hemorragia? _____
10. Tem ou teve alguma dessas doenças

Hipertensão	Pneumonia	Diabetes
Hipotensão	Tuberculose	Perda de peso
Dor de cabeça	Sinusite	Ganho de peso
Bronquite	Febre reumática	Hepatite
Epilepsia	Gastrite	Anemia
Problemas renais	Problemas hepáticos	Distúrbio psíquico
Doenças venéreas	Desmaio	
11. Se sente cansado ou falta de ar com freqüência? _____
12. Sente dor no peito depois de esforço ou sob tensão? _____
13. Qual o valor da PA e quando aferiu a última vez? _____
14. Está grávida ou amamentando? _____
15. Faz uso de bebidas alcoólicas ou drogas? _____
16. Fez uso de álcool nas últimas 4 horas? _____
17. Fuma? _____
18. Tem alguma doença ou sintoma não mencionado? _____

Eu, declaro, para todos os fins que prestei esclarecimentos corretos sobre meu estado de saúde, nada omitindo no questionário que respondi.

Ass. _____ data ____/____/____