ANNA CAROLINA RATTO TEMPESTINI HORLIANA

**AVALIAÇÃO DA DURAÇÃO ANESTÉSICA SOB A INFLUÊNCIA DA
HIALURONIDASE INJETADA ISOLADAMENTE NO BLOQUEIO
PTERIGOMANDIBULAR**

São Paulo

2006

Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana

**Avaliação da duração anestésica sob influência da hialuronidase
injetada isoladamente no bloqueio pterigomandibular**

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

2006

FOLHA DE APROVAÇÃO

Horliana ACRT. Avaliação da duração anestésica sob influência da hialuronidase injetada isoladamente no bloqueio pterigomandibular [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2006.

São Paulo: ____/____/____

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

A Deus por conceder saúde, paz e tranquilidade para prosseguir em meus estudos e atingir este objetivo.

Ao meu marido Ricardo com todo amor e carinho. Agradeço a Deus por ter feito que nossos caminhos um dia se cruzassem. Obrigada por me apoiar em todos os momentos, incondicionalmente, sem medir esforços sempre me incentivando, me oferecendo paz e tranquilidade. Minha gratidão por sua compreensão, e incansável apoio ao longo do período de elaboração deste trabalho.

Aos meus pais Osvaldo e Elisabete: abdicação de suas vidas em favor da educação dos filhos, pelo exemplo ensinamentos e formação moral, sem os quais não poderia ter realizado este trabalho e aos meus irmãos Luiz Carlos e João Paulo pela amizade e respeito. E às minhas avós Lurdes e América (*in memoriam*) que passaram a estar mais próximas do que nunca.

A todos os professores, colegas, técnicos, e pessoas, que de alguma forma, contribuíram com a elaboração deste trabalho, o qual me permite dar um passo importante na minha realização pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

À **Profª Maria Aparecida Borsatti**, pelo apoio em todos os momentos, pela competência e ao mesmo tempo humildade, por todas as horas despendidas, por todos os ensinamentos que me foram transmitidos no decorrer deste curso sem os quais este trabalho jamais estaria completo.

Muito obrigada!

Ao **Prof. Nicolau Tortamano** minha admiração pelo seu comprometimento com a Odontologia e pela oportunidade oferecida para a realização deste curso.

Ao **Prof. Rodney Garcia Rocha** por abrir as portas da Disciplina de Clínica Integrada, pelo exemplo de sabedoria, retidão e humildade que são características dos grandes mestres.

Ao **Prof. Flávio Eduardo Guillin Perez**, por me aprovar como aluna do estágio na Disciplina e por todos os ensinamentos clínicos adquiridos nestes anos, pelo incentivo constante, pela paciência e por sempre estar disposto a ajudar.

Ao **Prof. Carlos Alberto Adde** pela minha apresentação à Disciplina de Clínica Integrada, pela sua amizade, e pelo incentivo constante.

Ao **Prof. Mario Sérgio Soares** pela amizade e carinho, agradável convívio e exemplo profissional e de vida.

Ao **Prof. José Leonardo Simone** pela amizade e carinho e por todas as observações feitas durante todo este período.

Ao **Prof. Waldyr Antônio Jorge** pela simpatia e amizade.

Às queridas professoras da urgência: Isabel Peixoto Tortamano, minha admiração pela sua capacidade de conseguir administrar muitas tarefas com toda a rapidez, competência.

À **Profª Sibeles Sarti Penha** pela sua amizade, simpatia e pela maneira metódica com que conduz tudo o que faz, e acima de tudo pelo seu desprendimento em sempre ajudar as pessoas.

Em especial à **Profª Inês Aparecida Buscariollo** que me encaminhou a maioria dos pacientes atendidos resta pesquisa e por toda a sua irreverência, que a faz única.

À minha amiga e companheira **Vilma A. Vieira** por todos os momentos que esteve do meu lado, diariamente, sempre com uma palavra amiga de carinho, e que com certeza fez com que este período passasse mais suavemente. Por me incentivar a prestar a prova de mestrado e por ter acreditado em mim.

À minha querida amiga **Mayara A. D. de Brito** por realizar praticamente todas as cirurgias comigo e pelo companheirismo. Mayara sou grata a você pelo apoio e competente colaboração na realização deste trabalho.

Aos alunos de iniciação científica **Thatiana e Douglas** pela ajuda na realização na parte experimental deste trabalho.

Aos meus queridos amigos da pós-graduação **Andréia Perella, Kazue Kanegane, Renata Silva-Prado, Carina G. Costa, Maurício Tornelli, Irineu Pedron, Marcelo Romano e Pedro César e Leopoldo N. Silva** pela amizade e pelo companheirismo durante todo este período.

À **Profª Miriam Turbino**, pela orientação competente na elaboração da análise estatística.

Aos **funcionários do Departamento de Estomatologia** pela recepção e carinho.

Ao **serviço de pós-graduação** pela eficiência e agilidade com as quais pude contar durante todo este período.

A **todos os funcionários do SDO – FOU SP** (Biblioteca) pela atenção carinho e eficiência com que realizaram o atendimento durante todo o período de realização do curso, seria injusta se citasse nomes, pois com certeza esqueceria de alguém.

Às **bibliotecárias** pela competente revisão do trabalho quanto às normas da FOU SP para apresentação de dissertação e pela dedicação e simpatia no atendimento aos usuários do SDO-FOU SP.

À **Lúcia** por administrar o consultório nos momentos que precisei estar ausente e pela compreensão e à minha amiga **Rose** pelo incentivo.

À **CAPES** pelo apoio financeiro.

E finalmente um agradecimento especial aos **pacientes atendidos neste trabalho**, pela paciência e compreensão pontos fundamentais para a realização deste experimento aos meus **pacientes do consultório** que souberam entender minha ausência não só durante a realização deste trabalho, mas como também durante todo o período de estágio.

Horliana ACRTH. Avaliação da duração anestésica sob a influência da hialuronidase injetada isoladamente no bloqueio pterigomandibular [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2006.

RESUMO

A associação do anestésico local (AL) com hialuronidase é muito utilizada em oftalmologia melhorando a eficácia anestésica. Foi demonstrado que uma fração muito pequena das moléculas de AL injetadas atingem o feixe nervoso e o restante se difunde para os tecidos ao redor. O objetivo deste estudo foi verificar se a hialuronidase 75 UTR é capaz de prolongar a duração de ação anestésica quando injetada antes da regressão do efeito AL. Foram realizadas 40 cirurgias de terceiros molares inferiores bilaterais e simétricos, pelo mesmo operador, utilizando-se mepivacaína 2% com epinefrina para bloqueio pterigomandibular, em 20 pacientes saudáveis. Para cada cirurgia foi injetada aos 40 minutos, hialuronidase ou placebo, de modo duplo-cego. Utilizou-se estímulo elétrico na polpa para a avaliação da anestesia pulpar e estímulo mecânico (picada) na gengiva. Os testes foram feitos no pré-molar inferior, colateral à cirurgia. Em ambos tecidos avaliados, a duração da anestesia com hialuronidase foi maior ($p < 0,01$) do que com o placebo. Indiretamente, estes resultados são um indício de que a hialuronidase redireciona as moléculas de AL para a fibra nervosa, prolongando o tempo de bloqueio nervoso. Nestas condições experimentais, pode-se concluir que, a hialuronidase prolonga a duração de ação anestésica local.

Palavras-Chave: Anestésicos Locais – Odontologia; Hialuronogluconaminidase

Horliana ACRT. Evaluation of duration of anaesthetic action influenced by plain hyaluronidase in pterigomandibular block [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2006.

ABSTRACT

The association of local anaesthetic (LA) with hyaluronidase is widely used in ophthalmic anaesthesia improving its efficacy. It was demonstrated that a fraction of molecules of the LA applied reached the nerve and the others spreads out to the tissues around. Our purpose was to verify if hyaluronidase (75 TRU) is able to prolong the duration of anaesthetic action when it was injected immediately before the end of pulpal anesthesia. It was realized 40 bilateral and symmetrical third inferior molar surgeries by the same operator, with 2% mepivacaine with epinephrine to block inferior alveolar nerve, in 20 healthy patients. In each surgeries was injected at 40 minutes hyaluronidase or placebo, in a double blinded manner. It was used electrical stimulus to evaluate pulpal anesthesia, and was done mechanical stimulus (pick) to evaluated gingival anaesthesia. The tests were done in the inferior premolar, collateral side to the surgery. In both tissues, the duration of action with hyaluronidase was longer ($p < 0.01$) than placebo. Indirectly, these outcomes indicate that hyaluronidase redirects the molecules of LA to the nervous fiber. Regarding these experimental conditions, it is possible to conclude that hyaluronidase induce long-term local anesthesia.

Keywords: Local Anesthetics – Dentistry; Hyaluronoglicosaminidase

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	p.
Figura 2.1 - Ilustração da estrutura molecular das proteoglicanas.....	21
Figura 2.2 - Estrutura do ácido hialurônico O retângulo mostra a subunidade(dissacarídeo) que se repete formando uma longa cadeia polissacarídica	22
Figura 2.3 - Estrutura química de um tetrassacarídeo.....	23
Figura 2.4 - Tetrassacarídeo formado pela hialuronidase de testículo bovino ..	25
Figura 2.5 - Tetrassacarídeo formado pela hialuronidase por algumas espécies de sanguessugas.....	25
Figura 2.6 - Dissacarídeo formado pela hialuronidase por algumas espécies bacterianas.....	26
Figura 4.1 - Radiografia panorâmica mostrando disposição anatômica semelhante bilateral segundo a classificação II posição b de Pell e Gregory.	42
Figura 4.2 - Frascos codificados com solução de hialuronidase com solvente ou com solução de água destilada preparadas e envasadas em frascos de 1,0 ml pela Apsen Farmacêutica S/A	47
Figura 4.3 - Solução de hialuronidase e solução de água destilada sendo aspiradas para o tubete anestésico local vazio.....	47
Figura 4.4 - Pulptest Vitality Scanner Model 2005™	48
Figura 4.5 - Aparelho SCHOLLAR II, da Criticare System®	49
Figura 4.6 - Teste de vitalidade sendo realizado no primeiro pré molar inferior direito hígido.....	55

Figura 4.7 -	Estímulo mecânico nociceptivo (picada) na gengiva sendo realizado na gengiva entre o primeiro e o segundo pré-molar.....	56
Figura 5.1 -	Histograma representativo dos valores da média aritmética e desvio padrão da variável duração em tecido pulpar (min) com o resultado estatístico, onde $\alpha=0.01$	63
Figura 5.2 -	Histograma representativo dos valores da média aritmética e desvio padrão da variável duração em tecido gengival (min.) com resultado estatístico, onde $\alpha=0.01$	64
Quadro 4.1 -	Classificação de Pell e Gregory.....	43
Quadro 4.2 -	Composição de 1,0 ml de solução anestésica.....	45
Quadro 4.3 -	Composição de 1,0 ml de solução de hialuronidase.....	45
Quadro 4.4 -	Composição de 1,0 ml de placebo.....	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 -	Média aritmética e desvio padrão dos dados demográficos...	61
Tabela 5.2 -	Valores da média aritmética e desvio padrão para as durações dos atos cirúrgicos.....	61
Tabela 5.3 -	Valores absolutos do tempo de duração anestésica (min).....	62
Tabela 5.4 -	Média aritmética e desvio padrão da duração em tecidos gengival e pulpar (min).....	63

LISTA DE SÍMBOLOS

®	Marca registrada
™	Trade marked
α	alfa
β	beta
%	porcentagem
C ¹⁴	Isótopo de carbono
p	probabilidade
G	grupo
'	minuto

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AL	Anestésico local
ASA	American Society of Anesthesiologists
LA	Local anaesthetic
UI*	unidade internacional
UI/ml ⁻¹	unidade internacional por ml
UTR*	unidade de turbidez reduzida
UTR/ml	unidade de turbidez reduzida por ml
USP*	United States Pharmacology
C _{max}	Concentração máxima
T _{max}	Latência para a concentração máxima
IMC	índice de massa corpórea (medido em Kg/m ²)
kg	Quilo
m ²	Metro quadrado
µg.ml ⁻¹	micrograma por mililitro
µg	micrograma
ml	mililitros
mm Hg	milímetros de mercúrio
bpm	batimentos por minuto
min	minutos
h	horas
L	litro (também é aceito o L minúsculo)
n	Tamanho da amostra

1:100.000	Um grama para cem mil mililitros
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
ECG	Eletrocardiograma
q.s.p.	Quantidade suficiente para
Co	Company
Inc.	Incorporation
USA	United States of America
FOUSP	Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
S/A	Sociedade Anônima
⁰	grau
P/A ²	Peso em quilos dividido pela altura ao quadrado
H	homens
M	mulheres
EMLA	Eutetic Mixture Local Anaesthetic
S	Sinister ou Levógiro ou
R	Rectrus ou Dextrógiro
PS	Pressão sistólica
PD	Pressão diastólica
PM	Pressão média
FC	Frequência cardíaca

* Unidades equivalentes para hialuronidase

SUMÁRIO

	p.
1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	19
3 PROPOSIÇÃO	40
4 CASUÍSTICA-MATERIAL E MÉTODOS.....	41
5 RESULTADOS.....	61
6 DISCUSSÃO	65
7 CONCLUSÃO.....	74
REFERÊNCIAS.....	75
APÊNDICES.....	79
ANEXOS.....	91

1 INTRODUÇÃO

Um artifício bastante utilizado na clínica para melhorar a eficácia do efeito bloqueador de anestésicos locais consiste em acrescentar aditivos, como os vasoconstritores, principalmente, bicarbonato de sódio, hialuronidase e outros. Estes podem alterar a qualidade, intensidade, duração ou a velocidade da instalação do bloqueio nervoso.

A administração concomitante de um anestésico local (AL) ao agente difusor hialuronidase é realizada principalmente em anestesia oftalmológica há mais de 40 anos e tem proporcionado melhora na eficácia anestésica e reduzido o risco de complicações locais. Outros estudos afirmam que a hialuronidase é efetiva apenas nos bloqueios retrobulbares e peribulbares que sua eficácia não tem sido comprovada em outras áreas do corpo humano. Tal associação poderia ainda diminuir a duração de ação do AL ao difundi-lo para outros tecidos e aumentar a velocidade de absorção do AL, por estar em elevada concentração no momento da injeção (SARVELA; NIKKI, 1992; NICOLL et al., 1986; BRYDON; BASTER; KERR, 1995; NATHAN et al., 1996).

Isto também foi observado em odontologia e, portanto, seu uso também é controverso. A injeção concomitante de lidocaína e hialuronidase para bloqueio pterigomandibular em humanos não prolongou o efeito anestésico além de induzir a dor e trismo (RIDENOUR et al., 2001).

Entretanto sabe-se que para realizar o completo bloqueio de condução em um nervo periférico, é necessária a administração de um grande volume e uma alta concentração do anestésico local, mas apenas uma pequena fração do volume

injetado (cerca de 1,6% do total) seria responsável pelo efeito anestésico como demonstrado *in vivo* por Popitz-Bergez et al. (1995).

Deste modo, neste estudo surge a possibilidade da hialuronidase ser injetada não concomitantemente ao AL, mas após a instalação do bloqueio nervoso, e mais especificamente, antes do término do efeito anestésico momento em que provavelmente a quantidade de AL próxima ao nervo estará reduzida.

Nestas condições, levanta-se a hipótese da hialuronidase injetada isoladamente antes da regressão do bloqueio nervoso ser capaz de prolongar a duração de ação anestésica e indiretamente demonstraria que a hialuronidase difunde e redireciona as moléculas restantes de AL para a fibra nervosa.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Ao associar um adjuvante ao anestésico local (AL) busca-se facilitar e aumentar o aporte de moléculas de AL ao seu local de ação intraneural. Alguns estudos buscaram quantificar a concentração intraneural.

2.1 Relação intraneural do anestésico local

Com a intenção de estudar a relação intraneural do anestésico local, ou seja, a quantidade necessária no interior da fibra nervosa capaz de proporcionar o efeito anestésico, Popitz-Bergez et al. (1995) utilizaram lidocaína a 1% marcada com C^{14} , para o bloqueio do nervo ciático de ratos. Após a administração do anestésico, em 3 minutos a concentração intraneural foi de $1,3 \pm 0,5\%$, em 15 minutos de $1,9 \pm 0,17\%$ e houve um decréscimo no tempo de 30 minutos para $1,1 \pm 0,12\%$ do total da dose administrada. Com o retorno da sensação dolorosa no tempo de 37 minutos, a concentração intraneural de anestésico foi de $0,4 \pm 0,02\%$ do total injetado, ou seja, a lidocaína intraneural no bloqueio completo é três vezes maior do que quando a sensação de dor profunda retorna. Observaram que durante o bloqueio da condução do impulso doloroso, entre o 5º e 35º minuto após a administração do anestésico, a concentração intraneural média de

lidocaína foi de $1,6 \pm 0,12$ % da dose total injetada. Estes autores concluíram que durante o bloqueio do nervo periférico somente uma pequena quantidade de anestésico local injetado pode alcançar o nervo para exercer seu efeito, pois existem barreiras anatômicas que são muito efetivas contra a difusão de drogas e uma fração substancial de anestésico injetado é removido pela circulação sanguínea e absorvido localmente pelos tecidos que envolvem o nervo. Os autores também constataram lidocaína residual no nervo depois que todas as funções neurológicas retornaram.

2.2 O ácido hialurônico e a hialuronidase

Os tecidos animais e vegetais apresentam um espaço extracelular que freqüentemente é preenchido por um complexo de componentes fibrosos denominado matriz extracelular. Esta matriz é composta por inúmeras proteínas e polissacarídeos em proporções variáveis que se organizam formando uma rede. Sua quantidade varia conforme o tipo de tecido sendo abundante, principalmente, nos tecidos conjuntivos. Os múltiplos componentes da matriz extracelular são secretados principalmente por fibroblastos e se dividem em dois tipos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2000):

- As estruturas fibrilares como o colágeno e a elastina;

- Os componentes que se agregam, mas não formam fibras, que podem se dividir em dois subgrupos: 1) glicoproteínas cuja principal função é realizar adesão entre matriz e células; 2) glicosaminoglicanas e proteoglicanas que formam um gel hidrófilo, semifluido no qual estão imersos todos os outros componentes da matriz; permitindo a circulação de nutrientes, hormônios e outros mensageiros químicos.

As proteoglicanas são constituídas por cadeias retas de dímeros de glicosamina e ácido urônico (glicosaminoglicanas) que se inserem em uma proteína alongada assumindo o aspecto de escova de mamadeira onde o arame central é a proteína e as cerdas são as glicosaminoglicanas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2000). Aproximadamente 20 a 250 destas moléculas proteoglicanas formam agregados com o ácido hialurônico (WATSON,1993) (Figura 2.1).

Fonte: Junqueira e Carneiro, 2000

Figura 2.1 - Ilustração da estrutura molecular das proteoglicanas

As glicosaminoglicanas constituem uma família complexa da qual o ácido hialurônico, o dermatansulfato, o condroitinsulfato e o heparansulfato são seus principais componentes. Apresentam radicais carboxila e também radicais sulfato (com exceção do ácido hialurônico). Consequentemente são moléculas com carga negativa elevada. Esta composição atrai uma nuvem de cátions (principalmente sódio) que é osmoticamente ativa, atraindo água o que explica a alta hidrofília destes compostos e a formação de um gel na matriz extracelular. Sabe-se que os grupamentos ácidos destes compostos interagem com os radicais básicos do colágeno contribuindo para a firmeza (turgor) da matriz extracelular (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2000).

O ácido hialurônico (ou hialuronato) é um polímero glicosaminoglicano não sulfatado encontrado na matriz extracelular. É formado pelo ácido glicorônico e N-acetilglucosamina alternadamente, os quais são ligados pela ponte β -1-4 (HYNES; WALTON, 2000). Esta subunidade de ácido hialurônico se repete (dissacarídeo) (WATSON, 1993) e pode ser visualizada pela Figura 2.2. Já na figura do Apêndice M pode-se visualizar a organização das estruturas teciduais citadas de forma esquemática.

Fonte: Hynes e Walton, 2000

Figura 2.2 - Estrutura do ácido hialurônico. O retângulo mostra a subunidade (dissacarídeo) que se repete formando uma longa cadeia polissacarídica

A hialuronidase foi identificada pela primeira vez por Duran (1929) ao perceber que a difusão pelos tecidos de certas vacinas, tinturas e toxinas quando injetadas subcutaneamente eram facilitadas por esta enzima. Desta forma passou a ser conhecida como um “fator de difusão” de substâncias através dos tecidos. Posteriormente constatou-se que este fator de difusão se devia a quebra do ácido hialurônico – substância de interligação celular (WATSON, 1993; HYNES; WALTON, 2000; SALMEN, 2003, FARR et al., 1997).

Basicamente, a enzima hialuronidase (mais corretamente chamada de hialuronoglucosaminidase) liquefaz a barreira intersticial presente entre as células por clivar a ligação glicosídica β -1,4 entre ácido glicorônico e N-acetilglucosamina, criando inúmeros oligossacarídeos, sendo esta uma ação reversível pois a estrutura do tecido é restabelecida num período de 2 a 4 dias. A figura 2.3 mostra um exemplo de um tetrassacarídeo formado pela quebra da ligação glicosídica β -1,4 alternada, ou seja, que pode ocorrer a cada dois dímeros (HYNES; WALTON, 2000; WATSON, 1993; FARR et al., 1997).

Figura 2.3 - Estrutura química de um tetrassacarídeo

Similares da enzima hialuronidase foram detectados em um grande número de tecidos, especialmente em extratos de testículos e no esperma, e em outros tecidos como: olhos, pele, fígado, rins, baço, musculatura esquelética, útero,

placenta, ovário, secreção nasal, líquido lacrimal e na parte posterior da hipófise, entre outros (WATSON, 1993; FARR et al., 1997). Também está presente nos espermatozóides exercendo um importante papel na fertilização de muitos mamíferos, inclusive de humanos. Também é encontrada em animais como lagartos, peixes, veneno de abelhas, aranhas, escorpiões, cobras e em algumas bactérias, fungos e animais invertebrados (SALMEN, 2003; FARR et al., 1997).

É importante salientar que existem diferentes grupos de hialuronidase e que quando isolados diferem quanto ao peso molecular e pH (SALMEN, 2003). Estas enzimas com seqüências homólogas podem ser classificadas segundo Meyer (1971) em três grandes grupos de acordo com o seu mecanismo catalítico (HYNES; WALTON, 2000; SALMEN, 2003):

- 1) Hialuronato-4-glicanohidrolase (tipo testicular): encontrada em mamíferos. Degrada o ácido hialurônico pela quebra da ligação 1,4- β -glicosídica sendo os tetrassacarídeos o principal produto (Figura 2.4) (CRAWFORD; KERR, 1994). Sob a ação da hialuronidase a alta viscosidade e habilidade lubrificante do ácido hialurônico ficam temporariamente diminuídas, o que aumenta a difusão das substâncias injetadas pelos planos teciduais. Entretanto, a difusão através das barreiras colágenas não é facilitada com o uso da hialuronidase, além de não causar a diminuição das fibras colágenas (WATSON, 1993; STERN, 2001; SALMEN, 2003; FARR et al., 1997).

Fonte: Salmen, 2003

Figura 2.4 – Tetrassacarídeo formado pela hialuronidase de testículo bovino

- 2) Hialuronato-3-glicanohidrolase (ou hialuronidase sanguínea) produzido por algumas espécies de sanguessugas e por alguns vermes. Esta enzima quebra a ligação 1,3- β -glicosídica e também se formam tetrassacarídeos (Figura 2.5) (SALMEN, 2003; FARR et al., 1997).

Fonte: Salmen, 2003

Figura 2.5 – Tetrassacarídeo formado pela hialuronidase por algumas espécies de sanguessugas

- 3) O terceiro grupo é o da hialuronidase bacteriana. Esta enzima degrada o ácido hialurônico através de uma reação de eliminação de todas as ligações glicosídicas β 1-4 e ocorre a produção de dissacarídeos não saturados como principal produto com a finalidade de facilitar a difusão de suas toxinas através dos tecidos. (Figura 2.6) (HYNES; WALTON, 2000; WATSON, 1993; SALMEN, 2000).

Fonte: Salmen, 2003

Figura 2.6 – Dissacarídeo formado pela hialuronidase por algumas espécies bacterianas

2.3 Farmacocinética da hialuronidase

A determinação das características farmacocinéticas da hialuronidase não é simples, especialmente quando administrada por via intravenosa, porque a hialuronidase do próprio organismo também se encontra no sangue circulante e, além disso, os seres humanos possuem diversos tipos de inibidores de hialuronidase. Quanto a sua absorção, ao ser aplicada uma injeção desta enzima, é inativada parcialmente por inibidores locais e absorvida pelo sistema circulatório. O componente ativo, a hialuronidase encontra-se imediatamente disponível quando ocorre injeção intravenosa. Na administração de 500 UI de hialuronidase/kg de peso corpóreo foi constatado um tempo de eliminação de (depuração) de 2,4 a 4,1 minutos, após a injeção de 8 até 10,7 UI/ml de soro (FARR et al., 1997).

A distribuição da hialuronidase efetua-se principalmente no fígado, rins, trato gastrointestinal e nas demais partes do organismo. A meia vida da atividade enzimática sérica foi determinada como sendo de $3,1 \pm 0,6$ minutos. A eliminação da hialuronidase é realizada em três fases: na primeira fase, é constatada uma rápida queda de atividade sérica, na segunda fase ocorre a passagem da enzima do ambiente intravascular para o extravascular, com duração de aproximadamente

de uma a duas horas. Na terceira fase a hialuronidase é inativada e eliminada e este processo dura de uma a três horas. (FARR et al., 1997).

2.4 Utilização terapêutica da hialuronidase

A hialuronidase utilizada terapeuticamente é a do tipo testicular. Das muitas descobertas disponíveis sobre as possibilidades de aplicação desta enzima, não existe nenhum motivo, do ponto de vista toxicológico que contra-indique a administração da enzima para seres humanos. Tanto em testes de aplicação única como também na aplicação da hialuronidase em longo prazo, não foi possível constatar patologias orgânicas significativas. Além disso, a hialuronidase não consegue ultrapassar a barreira sanguínea cerebral em pessoas saudáveis (FARR et al., 1997). Porém, sempre deve ser observado o caráter antigênico da enzima, isoladamente ou em combinação, o qual não pode ser excluído. São raros os casos de alergia reportados na literatura (WATSON, 1993; NICOLL et al., 1996; QUHILL; BOWLING; PACKARD, 2004). Segundo Watson (1993), a hialuronidase possui um aparente papel no aumento intenso na permeabilidade vista em reações anafiláticas. Em contrapartida, tem-se a citação de Nicoll et al. (1996) que observou mais de 6000 bloqueios retrobulbares e não constatou nenhuma reação tóxica durante seus bloqueios nervosos. Mesmo assim, é importante ter precaução em indivíduos susceptíveis (WATSON, 1993; QUHILL; BOWLING; PACKARD, 2004).

Até agora a hialuronidase teve seu uso dedicado à medicina. Especialmente pela sua capacidade de reduzir a viscosidade da matriz extracelular torna os tecidos mais permeáveis a fluidos injetados e, deste modo, pode ser utilizada terapêuticamente para aumentar a velocidade de difusão e absorção nos tecidos circundantes, promover reabsorção do excesso de fluidos extracelulares, diminuir a destruição tecidual causada pela injeção de fluidos pela via intramuscular e subcutânea, aumentar a efetividade da anestesia local (SALMEN, 2003; FARR et al., 1997).

Existem alguns estudos sobre a utilização da hialuronidase (hialuronato-4-glicanohidrolase) utilizada isoladamente para a indução do trabalho de parto (SPALLICCI, 2002).

Já o seu uso associado aos anestésicos locais é mais difundido na área oftalmológica do que em outras áreas como: otorrinolaringologia (CLEMENT et al., 2003), ginecologia (HIBBARD; GRASSIE, 1955) e em cirurgias de enxerto de pele (AHAMED; AHAMED, 2004).

Em cirurgias oftalmológicas, vários estudos vêm sendo realizados no sentido de melhorar a eficácia dos bloqueios anestésicos tanto retrobulbar (SARVELA; NIKKI, 1992; KALLIO; PALOHEIMO; MAUNUKSELA, 2000), como peribulbar (NICOLL et al., 1986; SOARES et al., 2002; BARR et al., 1995; GAO; BUDD, 1996; HAMADA et al., 2005). Para tanto, a hialuronidase tem sido utilizada para facilitar a difusão do anestésico local através da gordura periocular pela sua ação na hidrólise do ácido hialurônico do tecido intersticial (NATHAN et al., 1996; WATSON, 1993; SOARES et al., 2002; CRAWFORD; KERR, 1994; DEMPSEY; BARRET; KIRBY, 1997; MANTOVANI; BRYANT; NICHOLSON, 2001). Outros

efeitos da hialuronidase como adjuvante dos anestésicos locais em oftalmologia são a redução da latência do bloqueio nervoso (SARVELA; NIKKI, 1992; NICOLL et al., 1986), a diminuição da pressão intra-ocular (SOARES et al., 2002) e ação protetora da hialuronidase contra a injúria muscular causada pelos anestésicos locais (especialmente a bupivacaína) (HAMADA et al., 2005). Além disto, esta enzima também permite que pequenos volumes de anestésicos locais sejam utilizados e quando combinados com adrenalina, promovem prolongada analgesia (WATSON, 1993).

Nicoll et al. (1986) demonstraram que a adição de hialuronidase (75 UTR/ml) em uma mistura de bupivacaína (0,5%) e lidocaína (2%) melhorou a eficácia do bloqueio retrobulbar. A porcentagem de sucesso (completo bloqueio retrobulbar) foi de aproximadamente 49% para o grupo que recebeu apenas bupivacaína/lidocaína, enquanto que para o grupo anestesiado com bupivacaína/lidocaína e hialuronidase foi de 81%, evidenciando que a hialuronidase melhora a eficácia da anestesia.

Em outro estudo, a associação de hialuronidase e etidocaína foi avaliada no bloqueio peribulbar em 70 pacientes submetidos à cirurgia de catarata. A analgesia foi observada em 21 pacientes que receberam a associação de etidocaína e hialuronidase (7,5 UTR/ml), enquanto que no grupo etidocaína sem hialuronidase, apenas 8 pacientes relataram analgesia total. A analgesia parcial foi observada em 11 pacientes do grupo etidocaína com hialuronidase e em 19 pacientes do grupo etidocaína isolada. A incidência de falha na anestesia foi de 6% para o grupo tratado com etidocaína / hialuronidase e de 15% para o grupo que recebeu apenas a etidocaína. Observou-se também que o volume de

anestésico necessário para a completa anestesia local foi de $10,8 \pm 2,3$ ml para o grupo de etidocaína/ hialuronidase e de $13,1 \pm 2,7$ ml para o grupo de etidocaína ($p < 0,01$), evidenciando que com a hialuronidase, há necessidade de menor volume de AL, o que evitaria complicações sistêmicas se for considerado o grande volume de solução anestésica necessária para estes bloqueios. Os autores também compararam a utilização de etidocaína associada a hialuronidase na dose de 7,5 UTR/ ml com a etidocaína associada a hialuronidase na dose de 15 UTR/ ml. Nenhuma diferença significativa entre os grupos de concentração diferente de hialuronidase em relação aos parâmetros avaliados, porém, no grupo que recebeu hialuronidase na dose de 15 UTR/ ml, um paciente apresentou hematoma subconjuntival (SARVELA; NIKKI, 1992).

Já Crawford e Kerr (1994) avaliaram a eficácia anestésica da hialuronidase injetada concomitante à mistura de lidocaína e bupivacaína durante o bloqueio peribulbar em 60 pacientes submetidos a cirurgias intra-oculares. Em metade dos pacientes foi administrado AL na proporção de 2:1 de lidocaína 2% e bupivacaína 0,75% (grupo controle) e na outra metade adicionou a hialuronidase a 50 UI ml^{-1} . Não encontraram diferenças significantes entre os grupos em relação à latência, necessidade de suplementação, falha anestésica e condições cirúrgicas.

Através de um estudo duplo-cego e randomizado, Byron, Basler e Kerr (1995) estudaram o efeito da adição da hialuronidase a uma mistura 1:1 de lidocaína 2% e bupivacaína a 0,75% para a anestesia peribulbar em 60 pacientes que se apresentaram para cirurgias intra-oculares. Os pacientes foram divididos em três grupos: grupo A sem hialuronidase ($n=20$), grupo B com hialuronidase a 50 UI ml^{-1} e grupo C com hialuronidase a 150 UI ml^{-1} . Foram analisadas a latência, tempo de

duração da acinesia (perda temporária da função motora), analgesia e a necessidade de injeções complementares. A adição de 150 UI ml^{-1} de hialuronidase resultou em uma média de tempo de acinesia de 9,2 minutos comparados com 10,9 minutos do grupo controle e 10,7 minutos para os que receberam a hialuronidase 50 UI ml^{-1} . Houve pouca necessidade de complementação anestésica no grupo C (20%) comparando-se com os outros grupos A (40%) e B (45%) apesar de nenhum destes achados ser estatisticamente significativo. Também concluiu que a hialuronidase não foi associada a nenhuma complicação.

Barr et al.(1995) estudaram as diferenças entre a concentração plasmática máxima ($C_{\max}$) de quatro grupos distintos após a anestesia peribulbar. No grupo G1- utilizou 10 mg ml^{-1} de lidocaína a 2% e $3,75 \text{ mg ml}^{-1}$ de bupivacaína a 0,5% ou a 0,75%. Nos grupos seguintes utilizou-se os mesmos anestésicos locais, mas variando somente os adjuvantes: G2- adrenalina $5 \mu\text{g ml}^{-1}$ G3- hialuronidase (75 UTR) e G4- hialuronidase e adrenalina. Os autores concluíram que a adrenalina reduz o $C_{\max}$ em 57% ($p=0,001$) para a lidocaína e 61% ($p=0,004$) para a bupivacaína comparando-se com os grupos sem adrenalina e sem hialuronidase. Já a hialuronidase não teve efeito significativo na redução do pico de concentração plasmática, 90% ($p=0,34$) para a lidocaína e 100% ($p=0,84$) para a bupivacaína, comparados com os grupos nos quais não se adicionou a hialuronidase. Embora a hialuronidase não tenha reduzido o pico de concentração plasmática, concluíram que a sua adição não induziu a uma maior absorção sanguínea que fosse clinicamente relevante.

Em um estudo semelhante, Gao e Budd (1996) tiveram como objetivo determinar em 25 pacientes a quantidade de absorção sanguínea e quanto tempo depois ocorreu a concentração máxima (T_{max}) de anestésicos locais após o bloqueio peribulbar de lidocaína 2% e bupivacaína 0,75% (na proporção 1:1) sem a adição de vasoconstritor, mas com a hialuronidase a 150 UI. O tempo de demora para atingir a concentração máxima de lidocaína ($0,722 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) e bupivacaína ($0,353 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) foi de 10 e 20 minutos respectivamente. A concentração plasmática esteve abaixo dos níveis tóxicos em todas as coletas durante os tempos (1 minuto após a anestesia e subsequentemente 10', 20', 30', 60', e 90'). O mais alto score de toxicidade (0,915) foi obtido somente após uma das complementações anestésicas ficando muito próximo do nível de toxicidade (=1). O score de toxicidade foi calculado dividindo-se o pico de concentração plasmática obtida durante o estudo pela concentração plasmática tóxica de $5.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (para a lidocaína) e $1,6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (para a bupivacaína).

Em outro estudo realizado por Nathan et al. (1996), foi demonstrado que, a hialuronidase altera a farmacocinética do anestésico local administrado no bloqueio peribulbar. Esses autores compararam a associação de hialuronidase (100 UTR/ 2ml) ou de água destilada (controle) à mistura de lidocaína 2% e bupivacaína 0,5%. O tempo de latência anestésica foi de $5,2 \pm 2,0 \text{ min}$. para o grupo tratado com hialuronidase e de $7,2 \pm 3,0 \text{ min}$. para o grupo controle. A absorção dos anestésicos locais foi acelerada com o uso da hialuronidase, uma vez que o tempo de alcance da concentração plasmática máxima (T_{max}) para a lidocaína foi de $17,1 \pm 2,6 \text{ min}$ no grupo com hialuronidase e de $32,7 \pm 6,0 \text{ min}$ no grupo controle, e para a bupivacaína de $16,8 \pm 3,9 \text{ min}$. para o grupo com

hialuronidase e de $26,5 \pm 4,4$ min. para o grupo controle. Entretanto, a concentração plasmática máxima (C_{max}) não foi afetada de forma significativa com a adição de hialuronidase, uma vez que para a lidocaína esta concentração foi de $1,31 \pm 0,12$ mg/L no grupo com hialuronidase e de $0,98 \pm 0,13$ mg/L no grupo controle, e para a bupivacaína, $0,32 \pm 0,04$ mg/L no grupo com hialuronidase e de $0,27 \pm 0,03$ mg/L no grupo controle. Em relação a meia vida plasmática e ao volume de distribuição final, não houve diferença significativa entre os grupos tratados com hialuronidase e o grupo controle, tanto para a lidocaína quanto para a bupivacaína. Estes autores concluíram que a hialuronidase pode aumentar a difusão do AL de seu local de administração para a corrente sanguínea, porém, que este aumento na velocidade de absorção não altera a concentração plasmática máxima desses anestésicos, as quais foram menores daquelas reportadas nas doses tóxicas. Ao analisar os efeitos de duas concentrações de hialuronidase na qualidade do bloqueio peribulbar, foram formados três grupos nos quais utilizou-se 5ml de 1:1 da mistura de bupivacaína 0,5% de lidocaína 2%. No grupo controle (n=50), foi utilizado somente estes anestésicos locais e nos outros dois grupos foi acrescentada a hialuronidase nas seguintes concentrações: grupo 2 (n=75) hialuronidase 50 UTR e no grupo 3 (n=75) utilizou-se a hialuronidase na concentração de 300 UTR. A hialuronidase nas duas concentrações aumentaram a qualidade do bloqueio peribulbar aos 5 minutos (grupo 2 $p < 0,05$ e grupo 3 $p < 0,001$) e quando a concentração de 300 UTR foi utilizada diminuiu também a latência do bloqueio. Os autores afirmaram que por causa deste benefício, da fácil administração e baixos níveis de toxicidade ou efeitos adversos por causa da maior absorção sanguínea de anestésicos locais,

defendem o uso da hialuronidase em uma concentração de 300 UTR (DEMPSEY; BARRETT; KIRBY, 1997).

Em um estudo no qual foram efetuadas 714 cirurgias oculares, Kallio, Paloheimo e Manuksela (2000) observaram que a adição de hialuronidase (3,75 ou 7,5 UTR/ml) a uma mistura de 1:1 de bupivacaína 0,75% e lidocaína 2% resultou em uma redução da latência tanto dos bloqueios retrobulbares como dos peribulbares, assim como na diminuição da necessidade de bloqueios complementares quando comparadas com o grupo no qual não foi utilizada a hialuronidase. Observaram ainda que a variação de concentração da hialuronidase não influenciou os resultados.

Mantovani, Bryant e Nicholson (2001) estudaram a eficácia anestésica em bloqueios peribulbares em uma amostra de 90 pacientes divididos em três grupos. Utilizou uma quantidade de 7 a 10 ml de lidocaína a 2% e de ropivacaína 1% (1:1) no grupo controle e nos outros dois grupos concentrações de 15 e 150 UI ml⁻¹ de hialuronidase. Não houve diferenças entre os grupos na incidência de pequenas complicações. A média de tempo para que o bloqueio nervoso fosse adequado (latência) para a cirurgia foi similar em todos os grupos (em média 6 minutos), mas a capacidade de movimento ocular avaliada através de valores (scores) aos 8 minutos foi significativamente mais baixa no grupo que recebeu a hialuronidase 150 UI ml⁻¹ do que no grupo que não foi utilizada a hialuronidase ($p < 0,03$). Apesar deste resultado, conclui que a relevância clínica deste achado é inconsistente.

Já no estudo de Soares et al. (2002), avaliaram a acinesia dos músculos retos, elevador da pálpebra e orbicular do olho (segundo os escores: 0= acinesia completa, 1= motilidade diminuída e 2= motilidade normal) e a intensidade de dor

durante a injeção do anestésico local. Em um dos grupos utilizaram a mistura enantiomérica de bupivacaína 75S:25R à 0,5% e lidocaína a 2% associada a hialuronidase 50 UTR/ml e no outro grupo os mesmos anestésicos locais sem a hialuronidase. A pálpebra foi avaliada 1, 5, 10, e 15 minutos após o bloqueio. Este estudo não demonstrou nenhum efeito da adição da hialuronidase na concentração de 50 UI ml⁻¹ sobre as variáveis estudadas, verificando que a anestesia cirúrgica foi satisfatória em todos os pacientes.

Como se pôde perceber, muitos estudos têm utilizado a hialuronidase como adjuvante dos anestésicos locais na área oftalmológica. Em outras partes do corpo humano a adição da hialuronidase aos anestésicos locais ainda é controversa. Em cirurgias de enxerto de pele, Ahamed e Ahamed (2004) através de uma carta ao editor, constataram que a anestesia em áreas doadoras confere vantagens como a injeção em dose única da associação, menor sangramento, maior duração da anestesia local e menos dolorosa do que quando são utilizadas injeções múltiplas sem hialuronidase ou quando utilizado o anestésico tópico EMLA[®].

Já outros estudos como o de Keeler et al. (1992), no qual avaliaram o efeito da bupivacaína 2mg kg⁻¹ com ou sem a hialuronidase (3.000 UTR) de modo duplo-cego durante o bloqueio do plexo braquial axilar, verificou que o uso da hialuronidase não diminuiu a latência da anestesia local e também não reduziu a incidência de bloqueios inadequados. Apesar de ter produzido uma significativa redução da duração da anestesia local não aumentou a necessidade de ingestão analgésica após a regressão do bloqueio.

O uso da hialuronidase em soluções de anestésico local para uso odontológico foi discutido durante muitos anos. O primeiro artigo na literatura odontológica a discutir o uso da hialuronidase em anestésicos locais surgiu em 1949, mas não há menção da hialuronidase na literatura odontológica nos anos recentes, com exceção de um artigo (RIDENOUR et al., 2001). Entretanto um número considerável de cirurgiões dentistas nos Estados Unidos e em outros lugares acrescentaram hialuronidase às soluções anestésicas e relataram casos de início consideravelmente mais rápido de anestesia no bloqueio do nervo e aumento da taxa de sucesso principalmente do nervo alveolar inferior, enfatizando que a hialuronidase na odontologia é um assunto de grande interesse e que são necessárias investigações clínicas para demonstrar a eficácia, segurança e dosagem apropriada desta combinação, devendo-se completar os estudos nesta área antes que o seu uso seja disseminado (MALAMED, 2001).

Recentemente, Ridenour et al. (2001) não observaram vantagens da administração de anestésico local concomitante à hialuronidase (ministradas numa mesma solução). Ao avaliarem a eficácia anestésica da lidocaína 2% com epinefrina associada ou não à hialuronidase 150 UTR/ml no bloqueio do nervo alveolar inferior, não observaram diferença significativa no nível de desconforto durante a injeção do AL entre os grupos com e sem hialuronidase. As taxas de sucesso AL, avaliadas pela resposta ao estímulo elétrico pulpar para a solução de lidocaína variaram de 20 a 81% e para o grupo com hialuronidase a taxa de sucesso foi de 23 a 70%, não havendo diferença entre as duas soluções. Quando a solução anestésica foi injetada concomitantemente a hialuronidase houve em alguns pacientes a ocorrência de dor local e trismo pós-operatório. Os autores

concluíram que a associação de hialuronidase ao anestésico local não aumentou a incidência do sucesso da anestesia local e aumentou a ocorrência de efeitos indesejáveis.

Enfatizando que em alguns estudos citados anteriormente mostraram resultados controversos em relação à eficácia da associação de hialuronidase aos anestésicos locais (SARVELA; NIKKI, 1992; NATHAN et al., 1996; KALLIO; PALOHEIMO; MAUNUKSELA; 2000, SOARES et al., 2002), questiona-se aqui, o fato de a hialuronidase ser injetada no mesmo momento do AL, ou seja, quando a concentração de AL, possivelmente, ainda está elevada e que possa ser a causa dos efeitos indesejados dos AL, e ainda, da incapacidade em prolongar a duração da anestesia por dispersar as moléculas de anestésicos locais. Se fosse alterado o momento de administração da hialuronidase, ou seja, não injetá-la junto ao AL, mas injetá-la imediatamente antes do término do bloqueio nervoso, para remanejar as moléculas de AL remanescentes, talvez prolongasse a duração do efeito anestésico e diminuísse a chance de efeitos adversos.

Essa hipótese foi recentemente testada por Borsatti et al. (2004), em estudo cego realizado em nervo ciático de rato. A hialuronidase prolongou significativamente ($p < 0.01$) a duração do efeito anestésico local (mistura enantiomérica de bupivacaína 75S:25R) quando injetada aos 60 minutos do início do bloqueio nervoso (antes da regressão do efeito anestésico), comparado ao grupo controle (mesmo AL seguido de solução fisiológica, injetada também aos 60 minutos do início do bloqueio nervoso). Estes autores também avaliaram se a hialuronidase também apresentava algum efeito anestésico local. Para isto,

utilizaram um grupo controle no qual a hialuronidase foi aplicada isoladamente sem AL. Não foi observado nenhum tipo de efeito anestésico local.

Para investigar clinicamente a hipótese da hialuronidase prolongar a duração anestésica em humanos, foi utilizado neste estudo um anestésico local de ação moderada mepivacaína a 2% associada ao vasoconstritor epinefrina (adrenalina) (MALAMED, 2001). Os anestésicos locais disponíveis atualmente para uso odontológico apresentam algum grau de vasodilatação, e os vasoconstritores são a eles associados para contrapor esse efeito. Essa interação medicamentosa é extremamente conveniente, não só porque o anestésico local permanece no local onde foi depositado por mais tempo, garantindo maior duração de ação, mas também porque sendo removido desta área lentamente, a concentração plasmática de anestésico atingida será bem menor, o que reduz o risco de toxicidade. Sua ação vasoconstritora serve também como hemostática, o que impede o sangramento excessivo trans- operatório e facilita a realização do procedimento (WANNMAKER, 1995; CHAN; KARMAKAR; CHUI, 2002).

A duração de ação está relacionada principalmente à ligação do anestésico local às proteínas plasmáticas e teciduais e à rapidez de inativação (metabolismo), além da vasoatividade da base anestésica (WANNMACHER, 1995; CHAN; KARMAKAR; CHUI, 2002; LIPP, 1993).

A mepivacaína destaca-se pela sua reduzida vasodilatação, que lhe provê anestesia profunda e duração de efeito aumentado, cerca de 20 minutos na polpa mesmo em formulação sem vasoconstritor, em comparação à lidocaína e a prilocaína (5 a 10 minutos, respectivamente), e é a preferida para procedimento

clínico de curta duração. A mepivacaína sem vasoconstritor apresenta-se na concentração à 3% e quando associada, à 2% (PRADO et al., 2000; MALAMED, 2001; HAWKINS; MOORE, 2002). Os vasoconstritores associados à mepivacaína são aminas adrenérgicas catecolamínicas, como a epinefrina (adrenalina), a norepinefrina (noradrenalina) e levonordefrina (MALAMED, 2001). O efeito vasoconstritor da adrenalina é o mais potente, porém menos duradouro que o da noradrenalina (em dose equipotentes), e a levonordefrina apresenta a menor eficiência e duração vasoconstritora (ROBERTS; SOWRAY, 1995).

O tempo de duração de ação anestésica média para mepivacaína 2% com adrenalina 1: 100.000 em tecido pulpar após bloqueio pterigomandibular observado na literatura foi em média de 60 minutos, e em tecido gengival de aproximadamente 140 minutos, citados por Malamed (2001) e Lipp (1993).

3 PROPOSIÇÃO

Verificar se a hialuronidase é capaz de prolongar a duração de ação anestésica local quando injetada isoladamente antes da regressão do bloqueio nervoso.

4 CASUÍSTICA- MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Casuística - material

4.1.1 casuística

A participação de pacientes voluntários neste estudo somente foi possível após o consentimento informado por escrito (Anexo B e Apêndice A), respeitando o protocolo aprovado no parecer do CEP nº 54/03 (Anexo A). Deste modo participaram deste estudo vinte pacientes normorreativos, estado físico ASA I (sistema de avaliação física baseado no American Society of Anesthesiologists Physical Status Classification System que significa que o paciente é saudável, normal – ausência de qualquer tipo de doença sistêmica leve ou moderada, citado por Malamed (2001) de ambos os gêneros com idade de 18 anos a 35 anos. Os pacientes foram selecionados no Setor de Urgência Odontológica e na Clínica Odontológica Ambulatorial, ambas da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP), e foram aceitos os que deram a sua anuência e preenchiem os requisitos da pesquisa.

4.1.2 critérios de inclusão

Foram incluídos:

- 1 – Pacientes que apresentavam os dois terceiros molares inferiores semi-inclusos com disposição anatômica simétrica bilateral entre eles segundo a classificação I e II e posição 1 ou 2 de Pell e Gregory (1933) (Figura 4.1), e com indicação para exodontia (por má posição dental, planejamento ortodôntico, etc.). Deveriam possuir pelo menos um dos pré-molares de cada lado hígidos ou com restauração classe I rasa (avaliado clínica e radiograficamente), com vitalidade, sem alterações periodontais e previamente assintomático, para que neste dente, fosse realizado o teste pulpar elétrico para verificação da duração da ação anestésica.
- 2 – História médica negativa, pressão arterial sistólica menor que 140 mm Hg, diastólica menor que 90 mm Hg e frequência cardíaca com valores entre 60 a 110 bpm.

Fonte: Pell e Gregory, 1933

Figura 4.1 - Radiografia panorâmica mostrando disposição anatômica semelhante bilateral segundo a classificação II posição b

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)

4.1.3 critérios de exclusão

Foram excluídos:

1. Voluntários que fizessem uso de qualquer medicação no período de quinze dias antes da primeira consulta clínica ou entre as consultas, exceto os anticoncepcionais (por não haver interação medicamentosa com os fármacos utilizados na pesquisa) e a medicação pós operatória prescrita.

2. Fumantes, gestantes ou alérgicos a qualquer fármaco utilizado na pesquisa,
3. Foi investigado se os pacientes apresentavam distúrbios clínicos associados ao colágeno como: escorbuto, Síndrome de Ehlers Danlos, osteogênese imperfeita, artrite reumatóide. Também foram excluídos pacientes com lesões cancerígenas ou infecciosas.
4. Pacientes com índice de massa corpórea abaixo de 25 Kg/m^2 e acima de 20 Kg/m^2 .
5. Pacientes que apresentassem pericoronarite ou abscesso periodontal nos terceiros molares inferiores.
6. Pacientes que durante o procedimento cirúrgico necessitassem de volume maior que o padronizado no experimento, vale ressaltar que estes receberam a quantidade necessária de AL até o final da cirurgia.

4.1.4 material de consumo:

1. Exame radiográfico: filme periapical, tipo Ektaspeed[®];
2. Procedimento cirúrgico: gaze estéril, fio de sutura (ponta-montada), sugadores e lâmina de bisturi número 15.
3. Antissepsia extra e intraoral: solução de gluconato de clorexidina a 0,12% (Periogard[®]) intraoral e clorexidina 2% extraoral
4. Biossegurança: avental descartável estéril, luvas cirúrgicas esterilizadas, gorro, máscara, óculos de proteção e campo cirúrgico estéril.

5. Gel Condutor de ECG e ultrassonografia (Med System®) para realizar o teste pulpar.
6. Anestesia local: agulhas longas descartáveis calibre 27G (Gengibras®), soluções anestésicas Mepivacaína 2% com adrenalina 1:100.000 em tubetes de 1,8 ml para seringa carpule (DFL Ind. Com. - lote:0411C18 – validade:novembro /2006).

Assim, cada 1,0 ml de solução contém:

Composição	Quantidade
Cloridrato de Mepivacaína	20mg
Epinefrina Base	10µg
Cloreto de sódio	6,5mg
Metabissulfito de potássio	1,2mg
Edetato Dissódico	0,25mg
Veículo q.s.p.	1,0ml

Quadro 4.2 – Composição de 1,0 ml de solução anestésica

A solução de hialuronidase foi manipulada em frascos de 1,0 ml para seringa carpule pela Apsen Farmacêutica S/A. (Figura 4.2). Assim, cada 1,0 ml de solução contém:

Composição	Quantidade
Hialuronidase	75UTR
Água destilada para injetáveis q.s.p.	

Quadro 4.3 – Composição de 1,0 ml de solução de hialuronidase

Solução de água destilada para injetáveis (grupo controle - placebo) foi preparada e envasada em frascos de 1,0 ml para seringa carpule pela Apsen Farmacêutica S/A (Figura 4.2). Assim cada 1,0 ml de solução contém:

Composição	Quantidade
Água destilada para injetáveis q.s.p.	1,0ml

Quadro 4.4 – Composição de 1,0 ml de placebo

Como se tratou de estudo duplo-cego, os frascos foram envasados e codificados pelo fabricante com os códigos: 0406013 e 0406014 sendo que a informação que revelava sobre qual frasco continha cada solução se encontrou em poder do Comitê de Ética em Pesquisa da FOU SP, até o final da análise estatística, portanto nem o paciente nem o pesquisador tiveram conhecimento de qual droga estava sendo utilizada em cada sessão (Figura 4.2). A administração destas soluções contidas nos frascos foi realizada após a aspiração total do volume líquido da hialuronidase ou da destilada através da seringa de aspiração (Figura 4.3) utilizando-se do mesmo frasco do tubete AL administrado naquele paciente.

Figura 4.2 - Frascos codificados com solução de hialuronidase com solvente ou com solução de água destilada preparadas e envasadas em frascos de 1,0 ml pela Apsen Farmacêutica S/A

Figura 4.3 - Solução de hialuronidase e solução de água destilada sendo aspiradas para o tubete anestésico local vazio

4.1.5 material permanente

4.1.5.1 instrumental utilizado

- 1 - Para exame clínico: espelho clínico, explorador duplo, pinça clínica.
- 2 - Para anestesia local: Seringa carpule de aspiração (Health Co[®], USA).
- 3 - Para Procedimento Cirúrgico: pinça cirúrgica, cabo para bisturi, sindesmótomo, caneta de alta rotação com irrigação; brocas cirúrgicas, elevadores, fórceps, cinzéis, martelo cirúrgico, pinça Mosquito, osteótomo, lima óssea, cureta cirúrgica, seringa hipodérmica e porta-agulha, afastadores, etc.

4.1.5.2 aparelhos utilizados para:

- 1 - Avaliação da PA durante a seleção do paciente; Esfignomanômetro (Tycos 750[®]) Estetoscópio (Littmann Classic II [®])
- 2 - Avaliação da anestesia pulpar: Aparelho Pulptest Vitality Scanner Model 2005[™] (Analytic, USA) (Figura 4.4): com corrente máxima de 15 miliamperes, tensão variável com pico de 350 volts para realização do teste elétrico de vitalidade. O aparelho apresenta uma sonda elétrica que encosta no dente e uma pinça de lábio, a qual serve como fio terra.

Figura 4.4 - Pulptest *Vitality Scanner Model 2005* (Analytic, USA)

- 3 – Avaliação da PA durante a cirurgia: Monitoração e registro dos parâmetros cardiovasculares: Monitor automático de pressão sanguínea não-invasivo – modelo SCHOLLAR II, da Criticare System[®] (Inc.; USA), com impressora para leitura contínua das pressões arteriais.

Figura 4.5 - Aparelho *SCHOLLAR II*, da Criticare System[®] (Inc.; USA)

4.2 Métodos

4.2.1 avaliação clínica para a seleção dos pacientes

Logo após os pacientes terem preenchido o termo de consentimento para participar da pesquisa, foi realizada a anamnese e exame físico. Para anamnese foi utilizada ficha clínica completa preparada para a pesquisa (Anexo C) e foi considerada história médica negativa quando nenhuma alteração de saúde geral do paciente era observada e quando não fazia uso de qualquer medicação (ASA I). Em seguida era feita a avaliação clínica odontológica (completada com exame radiológico) e de alguns parâmetros cardiovasculares para verificar se preenchiam os requisitos da pesquisa. Para exame radiológico foi feita a técnica radiográfica periapical na região dos

terceiros molares e dos pré-molares inferiores bilateralmente e quando necessária foi complementada com a radiografia panorâmica.

Os parâmetros cardiovasculares avaliados na seleção dos pacientes foi a pressão arterial sistólica e diastólica através do método auscultatório com esfigmomanômetro colocado no antebraço direito do paciente sentado e estetoscópio adaptado sobre a artéria braquial deste mesmo braço. A frequência cardíaca foi obtida através de palpação no pulso carotídeo durante um minuto.

4.2.2 metodologia de atendimento clínico

Os pacientes foram agendados para realização de exodontia no consultório odontológico no Centro de Pesquisa Clínica do Departamento de Estomatologia da FOUSP. Cada paciente foi atendido em duas sessões com um intervalo mínimo de quinze dias entre elas. O paciente sempre foi anestesiado e operado pelo mesmo cirurgião dentista nas duas consultas. As pacientes do sexo feminino foram agendadas posteriormente ao período menstrual.

4.2.3 método de avaliação cardiovascular

Durante os experimentos serão aferidos e registrados os valores da pressão arterial (PS), pressão diastólica (PD), pressão sistólica (PM) e frequência cardíaca (FC) através do Monitor CRITICARE[®] modelo Scholar II (Criticare System,USA)

No decorrer da cirurgia, o voluntário permaneceu sentado na cadeira odontológica semi-reclinada (45° ao chão), e o braço esquerdo posicionado paralelo ao tronco. O manguito foi adaptado ao antebraço esquerdo, no nível do coração, instruído para limitação do movimento. O dispositivo com fotopletismógrafo (“cuff finger” ou sensor digital) foi adaptado à falangeta do dedo indicador da mão direita, firmemente. Após o preparo do voluntário iniciou-se a calibração automática de rotina dos registros dos parâmetros cardiovasculares por cinco minutos, para estabilização e determinação de uma escala de valores de base para a pressão arterial (sistólica, diastólica e média), e frequência cardíaca para cada voluntário. Após este período o paciente permaneceu em repouso por mais quinze minutos para a completa estabilização e determinação de uma escala de valores de base para os parâmetros eletrocardiográficos iniciais utilizados assim como controle. Deste total de 20 minutos foram selecionados os últimos 10 minutos, os quais foram considerados como controle da experiência ou período basal, ou seja, todas as outras etapas foram comparadas a esta, do paciente em repouso e sem nenhuma atividade clínica.

4.2.4 metodologia para a aplicação da anestesia local

Neste estudo, a solução teste da de hialuronidase 75 UTR ou água destilada (utilizada de modo duplo-cego) deveriam ser injetadas antes do término do efeito AL da mepivacaína com adrenalina. Na literatura, como a média de duração de ação desta associação AL varia de 50 a 60 minutos, as soluções testadas foram injetadas 10 minutos antes desse momento, ou seja, aos 40 minutos.

Em cada sessão foi realizado um procedimento cirúrgico, sendo administrado em um dos procedimentos o anestésico local com vasoconstritor e após 40 minutos a solução de hialuronidase (grupo experimental) pela mesma via e técnica utilizada para o bloqueio dos nervos alveolar inferior e lingual. Após quinze dias, no outro procedimento, foi administrado o mesmo anestésico local e após 40 minutos a água destilada (grupo controle). Cada paciente recebeu os dois grupos de soluções sempre de maneira aleatória, porém sendo o estudo duplo-cego, tanto paciente quanto pesquisador não tiveram conhecimento de qual droga estava sendo utilizada em cada sessão. Os códigos das soluções de hialuronidase e água destilada foram revelados no final do experimento.

Foi utilizada a técnica anestésica indireta de bloqueio de condução dos nervos alveolar inferior e nervo lingual, e para anestesia do nervo bucal utilizou-se a técnica infiltrativa (MALAMED, 2001). O volume de anestésico local foi o mesmo para todas as cirurgias, totalizando 2,8ml, sendo administrados 1,8ml na técnica pterigomandibular e 1,0ml pela técnica

infiltrativa do nervo bucal. As soluções testadas (hialuronidase e água destilada) foram injetadas apenas para o bloqueio do nervo alveolar inferior e lingual, e não na técnica infiltrativa do nervo bucal. A velocidade de injeção foi de aproximadamente 1,0ml por minuto. Foram realizadas aspirações prévias no início da injeção e a cada mudança da posição da agulha, tanto para a administração dos anestésicos locais como para as soluções testadas.

Nos casos nos quais houve necessidade de complementação anestésica, o paciente foi descartado do estudo.

4.2.5 metodologia para a realização dos procedimentos cirúrgicos

A técnica cirúrgica para exodontia dos terceiros molares inferiores foi preconizada pela Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial da FOUSP, sendo composta basicamente pelas etapas: antissepsia extra e intraoral anestesia local, incisão do tecido mole, sindesmotomia, odontosseção, luxação, avulsão, curetagem alveolar, sutura e tamponamento.

4.2.6 estudo das variáveis

4.2.6.1 metodologia utilizada para o registro da duração da anestesia pulpar

Antes de iniciar a anestesia local, foi verificado o valor (score ou valor) basal através do teste elétrico no pré-molar inferior que variou de 40 a 50. Foi realizado o isolamento relativo com algodão e sobre a superfície vestibular do esmalte, e aplicado o gel condutor. Antes da sonda elétrica ser encostada no dente foi apoiada no lábio a sonda fio terra (Figura 4.5). Quando o paciente sentia qualquer sensibilidade, era orientado a erguer o braço esquerdo e afastava-se imediatamente a sonda do dente testado. Este teste foi realizado a cada 2 minutos até a perda da sensibilidade (o visor do aparelho mostra valores crescentes correspondentes ao aumento da corrente elétrica até o score máximo de 80), que indica objetivamente o início do bloqueio da condução nervosa, ou seja, início da ação anestésica local. Embora o tempo de latência não seja avaliado neste estudo, é necessário descrever como se determinou início de ação anestésica, por ser o ponto inicial de contagem da variável tempo de duração anestésica.

O teste foi realizado no pré-molar inferior colateral ao terceiro molar a ser avulsionado com a finalidade de avaliar a profundidade anestésica.

Figura 4.6 - Teste de vitalidade sendo realizado no primeiro pré molar inferior direito hígido

4.2.6.2 metodologia utilizada para o registro da duração da anestesia gengival

Para a determinação do início da anestesia gengival, foram aplicados estímulos mecânicos nociceptivos (a cada minuto) utilizando a ponta de um explorador na gengiva vestibular do pré-molar do lado anestesiado. Inicialmente foi feita uma leve pressão que ia aumentando até transpassar o tecido mole e alcançar o osso alveolar. Da mesma forma, o paciente era orientado a erguer o braço esquerdo a qualquer sinal de dor, então se afastava imediatamente o explorador da gengiva (Figura 4.7) Este teste foi realizado a cada 2 minutos até a perda total da sensibilidade gengival. Neste momento os valores de tempo de latência também foram desprezados e iniciou-se a análise da duração anestésica gengival.

O teste foi realizado na região de gengiva marginal entre o primeiro e o segundo pré-molar colateral ao terceiro molar sempre tomando o cuidado de

realizá-lo sempre em outro local, que ainda não tenha sido lesado, mas sempre na mesma região, com a finalidade de não se testar tecido inflamado, que poderia ser mais responsivo ao estímulo. Portanto a duração do efeito anestésico em tecido gengival foi definida como o tempo entre a instalação do efeito anestésico em tecido gengival (perda de sensibilidade na gengiva ao toque do explorador) até o retorno desta sensibilidade. Os testes para a verificação do retorno da sensação dolorosa, ao final da cirurgia, eram realizados a cada dez minutos.

Figura 4.7 - Estímulos mecânicos nociceptivos (picada) na gengiva sendo realizado na gengiva entre o primeiro e o segundo pré-molar

4.2.6.3 duração da ação anestésica

- DG: duração da ação em tecido gengival (em minutos)
- DP: duração da ação em tecido pulpar (em minutos)

Método para determinação do período da duração de ação:

DG: Determinado como o tempo entre a ausência de sensibilidade ao toque com o explorador (picada) na gengiva inserida a cada dez minutos até o retorno desta sensibilidade.

DP: Foi cronometrado o tempo decorrido entre a ausência de resposta ao teste elétrico (score 80) até o momento em que a polpa voltou a apresentar sensibilidade ao teste (qualquer score menor que 80), sendo realizado o teste pulpar a cada dez minutos.

4.2.7 dinâmica da experiência

4.2.7.1 fase pré-anestésica

- Antissepsia (bochecho com Periogard[®]);
- Início do registro dos parâmetros cardiovasculares com o paciente deitado na cadeira odontológica;
- Realização do teste elétrico pulpar, para anotação do valor numérico obtido pelo aparelho, correspondente ao valor basal do pré-molar colateral à cirurgia.

4.2.7.2 fase anestésica

- Administração da anestesia local.
- Realização do teste elétrico pulpar até a ausência de sensibilidade pulpar no pré-molar testado a cada minuto.
- Cronometragem dos 40 minutos após o início da AL pulpar necessários para a administração solução teste (hialuronidase ou água destilada) sendo neste intervalo realizado teste elétrico pulpar e gengival ao toque a cada 10 minutos.

4.2.7.3 fase cirúrgica

- Incisão do tecido mole.
- Sindesmotomia.
- Odontossecção (com broca).
- Luxação
- Curetagem.
- Sutura.
- Administração da hialuronidase/água destilada para injetáveis (aos 40 minutos após início do efeito anestésico). Este momento da

administração poderia ocorrer antes da sutura, ou seja, desde que fosse o 40º minuto da anestesia local.

- Após a administração da solução testada, o teste elétrico pulpar e gengival ao toque era realizado a cada 10 minutos até o retorno da sensibilidade (qualquer valor menor que 80 não sendo necessário voltar ao score basal).
- Todos os dados foram anotados em ficha elaborada para a pesquisa.

4.2.7.4 fase pós-operatória

- Avaliação da duração da anestesia testado no primeiro minuto pós-hialuronidase, e a cada 10 minutos, até o momento em que a polpa voltasse a apresentar sensibilidade ao teste (qualquer score menor que 80).
- Final da monitoração dos parâmetros cardiovasculares.

4.2.8 estudo estatístico

Os resultados da variável duração de ação anestésica foram submetidos ao tratamento estatístico utilizando teste t de Student não pareado (por haver distribuição homogênea e/ou normal).

5 RESULTADOS

5.1 Dados demográficos

As médias aritméticas e os desvios padrão dos dados demográficos da população estudada (idade, gênero, peso, altura e índice de massa corpórea) estão dispostos na Tabela 5.1. (O índice de massa corpórea é medido pelo peso em quilos dividido pela altura elevada ao quadrado = P/A^2).

Tabela 5.1 – Média aritmética e desvio padrão dos dados demográficos

Dados demográficos	Média aritmética	Desvio Padrão
Média de idade	23	± 3,9
Gênero	7 (H) ^{*2} 13 (M) ^{*3}	-----
Peso	62	± 9,2
Altura	1,65	± 8,5
IMC ^{*1}	22	± 2,2

^{*1}Índice de massa corpórea ^{*2} Homens ^{*3} Mulheres

As médias aritméticas e os desvios padrão dos tempos de cirurgia estão dispostos no Tabela 5.2.

Tabela 5.2 – Valores da média aritmética e desvio padrão para as durações dos atos cirúrgicos

Duração dos atos cirúrgicos	Média aritmética	Desvio Padrão
Hialuronidase	60,9	± 15,4
Placebo	66,4	± 16,2

Os detalhes da análise estatística descritiva para os dados demográficos e de duração do procedimento cirúrgico se encontram nos Apêndices B, C, D.e E

5.2 Duração do efeito anestésico em tecido pulpar e gengival

Os valores absolutos da duração do efeito anestésico em tecido gengival e tecido pulpar da mepivacaína com adrenalina seguida da hialuronidase ou placebo estão dispostos na Tabela 5.3.

Tabela 5.3 – Valores absolutos do tempo de duração anestésica (min)

Paciente	AL* + placebo		AL* + hialuronidase	
	gengival	pulpar	gengival	pulpar
1.	69	70	107	108
2.	82	93	117	123
3.	94	86	127	93
4.	97	94	153	85
5.	112	105	131	147
6.	108	87	92	77
7.	116	85	117	116
8.	59	56	88	75
9.	86	84	114	90
10.	64	62	172	203
11.	116	91	149	142
12.	115	88	80	50
13.	96	90	105	96
14.	73	90	151	142
15.	95	81	101	89
16.	107	75	113	101
17.	79	46	138	129
18.	130	104	114	105
19.	79	64	109	108
20.	125	99	149	121

*AL = Anestésico Local (mepivacaína 2% com adrenalina 1:100. 000)

Os valores médios e o desvio-padrão estão apresentados no Tabela 5.4 e ilustrados nas Figuras 5.1 e 5.2.

Tabela 5.4 – Média aritmética e desvio padrão da duração em tecidos gengival e pulpar (min)

	Tecido gengival	Tecido Pulpar
AL + placebo	95,1 min (1:35 horas) $\pm$ 20 min	82,5 (1:22 horas) $\pm$ 15 min
AL + hialuronidase	121,3 min (2:01 horas) $\pm$ 24 min	110 (1:50 horas) $\pm$ 33 min

Os resultados dos valores absolutos foram submetidos ao teste t de Student não pareado a 1% de significância tanto para os valores de duração pulpar quanto para os valores de duração gengival. Os detalhes da análise estatística para os dados de duração pulpar se encontram nos Apêndices F,G e H.

O histograma abaixo (Figura 5.1) representa os valores da média aritmética e desvio padrão da variável duração em tecido pulpar com o resultado estatístico onde houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0.01$) entre os grupos testados (placebo e experimental) com relação à duração da anestesia em tecido pulpar.

Figura 5.1 – Histograma representativo dos valores da média aritmética e desvio padrão da variável duração em tecido pulpar (min) com o resultado estatístico onde $\alpha = 0.01$

O histograma a seguir (Figura 5.2) representa os valores da média aritmética e desvio padrão da variável duração em tecido gengival com o resultado estatístico

onde houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0.01$) entre os grupos testados (placebo e experimental) com relação à duração da anestesia em tecido gengival.

Figura 5.2 – Histograma representativo dos valores da Média aritmética e desvio padrão da variável duração em tecido gengival (min.) com resultado estatístico, onde $\alpha = 0.01$

Os detalhes da análise estatística para os dados de duração pulpar se encontram nos Apêndices I, J e L.

6 DISCUSSÃO

Apesar da associação de hialuronidase ao anestésico local ser amplamente utilizada na anestesiologia oftalmológica devido às vantagens que oferece, seu uso é menos freqüente em outras áreas médicas, e na odontologia, é praticamente desconhecida.

Muitos estudos clínicos afirmam que a hialuronidase somente é efetiva nos bloqueios peribulbares e retrobulbares (SARVELA; NIKKI, 1992; NATHAN et al., 1996) e que sua eficácia não têm sido comprovada em nenhum outro lugar do corpo humano (NICOLL et al., 1986). Sarvela e Nikiki (1992) discutem que talvez não seja efetiva porque nos outros locais onde foi testada existam barreiras anatômicas mais espessas do que nos tecidos que envolvem o globo ocular. Assim, em outras áreas da saúde diferentes da oftalmológica, a indicação e os benefícios obtidos com tal associação ainda permanecem controversos, além de não haver consenso quanto à concentração e volume de hialuronidase a ser administrado (BRYDON; BASLER; KERR, 1995; DEMPSEY; BARRETT; KIRBY, 1997; KALLIO; PALOHEIMO; MAUNUKSELA, 2000).

Particularmente em odontologia, o estudo de Ridenour et al. (2001), que utilizou hialuronidase 150 UTR injetada junto ao AL para o bloqueio pterigomandibular, não alcançou o propósito do trabalho de aumentar o índice de sucesso da anestesia local e, em contrapartida, induziu efeitos adversos de dor durante a cirurgia e trismo no pós-operatório, o que levou os autores a contra-indicarem seu uso.

O panorama descrito por Ridenour et al. (2001) poderia parecer irreversível quanto a essa contra-indicação em odontologia, e assim o seria não fosse a possibilidade aventada neste estudo. Antes, vale ressaltar que, este estudo não pretende negar a importância dos resultados obtidos no trabalho de Ridenour et al. (2001). Ainda, ficando no plano da argumentação, também se discute aqui outras informações obtidas na literatura que somadas a análise desse trabalho, guiaram a proposição deste estudo.

O que havia em comum entre todos esses estudos citados, tanto em medicina quanto em odontologia, era o momento em que a hialuronidase era injetada, ou seja, sempre concomitante ao anestésico local. Embora Ridenour et al. (2001) não tenham explicado em seu estudo porque ocorreram os efeitos adversos de dor e trismo, é possível que a hialuronidase, por ser injetada concomitantemente ao AL, tenha facilitado a difusão deste do local de ação, e assim, reduzido a duração do bloqueio nervoso levando a dor, além de difundir o AL, que no momento inicial da anestesia estava em alta concentração, para tecidos adjacentes ao da cirurgia ocorrendo o trismo.

Essa possibilidade encontra apoio na citação de alguns autores que afirmam que a adição de hialuronidase reduz a duração de ação do anestésico local por aumentar a sua difusão para os tecidos, além de aumentar sua velocidade de absorção sangüínea (BRYDON; BASTER; KERR, 1995; NATHAN et al., 1996; MALAMED, 2001).

Do ponto de vista de segurança, se apenas uma pequena fração do AL injetado (aproximadamente 1,6% do total) é capaz de penetrar a fibra nervosa, bloquear a condução do impulso e o restante fica próxima a fibra nervosa a se difundir ou até sua absorção, como observado por Popitz-Berger et al. (1995),

então, talvez o momento ideal para injetar a hialuronidase fosse antes do término do efeito anestésico.

Destarte, tratava-se de uma questão de estratégia, pois nesse momento, se fosse injetada a hialuronidase, possivelmente, a concentração de AL no local já estaria reduzida, mas, talvez fosse o suficiente para prolongar o bloqueio nervoso após o remanejamento das moléculas de AL pelo agente difusor.

Para testar esta hipótese, foi realizado inicialmente um ensaio laboratorial *in vivo*, onde a hialuronidase foi aplicada isoladamente, antes da regressão do efeito anestésico local para prolongar a analgesia após bloqueio nervoso ciático de ratos, realizado por Borsatti et al. (2004), como parte deste grupo de pesquisa. Em seguida, na atual fase de pesquisa clínica, a hipótese defendida neste estudo também pressupunha que a injeção isolada de hialuronidase administrada antes do término da anestesia local fosse capaz de prolongar o efeito anestésico local.

Para este ensaio clínico, a escolha do anestésico local levou em consideração o tempo de demora de realização do procedimento clínico cirúrgico, sem grande complexidade (extração de terceiro molar inferior semi-incluso), de aproximadamente uma hora. Assim, o tipo de anestésico local a ser utilizado poderia ser qualquer um que tivesse duração de anestesia pulpar média de uma hora após bloqueio pterigomandibular, como a lidocaína, mepivacaína ou prilocaína, desde que associado a um vasoconstritor (JASTAK; YAGIELA 1983; MALAMED, 2001; NAFTALIN; YAGIELA, 2002). A associação anestésica escolhida foi a mepivacaína à 2% com adrenalina 1: 100.000.

Como não existem estudos clínicos anteriores semelhantes a este utilizando esta metodologia, a escolha do momento de injeção da hialuronidase levou em conta tanto a duração média dessa solução anestésica local, de 60 minutos em

tecido pulpar, como também um intervalo de tempo de 20 minutos antes do término da anestesia para que se a hialuronidase fosse injetada, pudesse ocorrer a possível redistribuição das moléculas de AL ainda presentes no local, ou seja, como se fosse a latência de um bloqueio nervoso complementar. Portanto, aos 40 minutos do início da anestesia, a hialuronidase ou placebo era injetada no mesmo local da injeção do AL, pela técnica de bloqueio pterigomandibular.

A determinação da concentração de hialuronidase à 75 UTR utilizada neste estudo foi empírica, e corresponde a metade da concentração utilizada por Ridenour et al. (2001) de 150 UTR, a fim de evitar efeitos adversos e verificar sua eficácia nessa concentração.

O volume de AL utilizado foi fixado em 1,8 ml no bloqueio do nervo alveolar inferior e 1,0 ml como complemento do nervo bucal. Sempre que houve necessidade de complementação anestésica durante a cirurgia (2 casos), os pacientes deixavam de participar do estudo, devido a variação no volume de solução utilizado. Já no caso de haver apenas falha na técnica de bloqueio pterigomandibular (como ocorreu em 4 sessões clínicas), pedia-se para que o paciente retornasse na semana seguinte para um novo atendimento.

Neste estudo foi constatado um aumento significativo do tempo de duração de ação anestésica em tecido pulpar ($p < 0,01$) com o uso de hialuronidase injetada antes do final da anestesia local (110 ± 33 min) em comparação ao placebo (grupo controle) (82 ± 15 min) (Figura 5.1). Em tecido gengival, a hialuronidase também induziu a um prolongamento ($p < 0,01$) da duração anestésica (121 ± 24 min) comparado ao placebo (95 ± 20 min) (Figura 5.2). Clinicamente, o uso de hialuronidase nessas condições é vantajoso, pois esse aumento de 28 minutos para duração anestésica pulpar e 26 para a gengival, proporciona mais tempo

para realização do procedimento clínico sem a necessidade de complementação anestésica.

Como não existem estudos anteriores em odontologia sobre a duração de ação em tecido pulpar e gengival utilizando hialuronidase nestas condições experimentais, não foi possível comparar estes estudos. Apenas no estudo de Borsatti et al. (2004), em nervo ciático de rato, também pode ser observado que a hialuronidase induziu ao prolongamento da anestesia em nervo ciático de rato, quando injetada antes do término da anestesia.

Quando se compara este resultado com os citados na literatura sem o uso de hialuronidase e que, também corresponde ao nosso grupo controle (com placebo), pode se observar que o tempo de duração de ação anestésica média para mepivacaína 2% com adrenalina 1:100.000 em tecido pulpar após bloqueio pterigomandibular é em média de 85 minutos (LIPP, 1993; NAFTALIN; YAGIELA, 2002), próximo ao obtido neste estudo (82 min). Já para o tecido gengival, na literatura, a duração de ação média é de aproximadamente 140 minutos, valores maiores que o obtido neste experimento (95 min), provavelmente devido à diferença de metodologia (parestesia labial e não picada na gengiva utilizada neste ensaio) (JASTAK; YAGIELA, 1983; LIPP, 1993; NAFTALIN; YAGIELA, 2002).

A duração de um anestésico local é proporcional ao tempo em que ele permanece em contato com o nervo e inversamente à velocidade em que este é removido do local, ou liberado do canal para sódio (MALAMED, 2001). Como alguns fatores clínicos e farmacológicos interferem nesse parâmetro, em seguida será discutido como o uso da hialuronidase influenciou nestes fatores.

Os fatores clínicos incluem a variação da resposta individual ao agente

anestésico local, destreza manual do profissional na administração anestésica, vascularização local, ausência de inflamação, variação anatômica e a técnica anestésica aplicada (supraperióstica ou bloqueio regional). E entre os fatores farmacológicos estão as propriedades físico-químicas do anestésico local, como a lipossolubilidade, e ainda, a vasoatividade do próprio anestésico local, a presença de substância vasoconstritora e principalmente o grau de ligação protéica (MALAMED, 2001).

Para evitar que os fatores clínicos influenciassem demasiadamente os resultados, cada paciente era controle de si mesmo, ou seja, era realizado em um lado (direito ou esquerdo), o ensaio do grupo experimental e no outro, o controle com placebo. Assim, procurou-se reduzir as diferenças inter-individuais de anatomia e de fisiologia, vascularização local e susceptibilidade individual à droga. Realizou-se a mesma técnica anestésica pelo mesmo operador nos dois lados. Ainda, ambos os lados apresentavam ausência de inflamação, já pré-determinado na seleção dos pacientes.

A solução anestésica local injetada nos dois lados do paciente foi a mesma, logo, os fatores farmacológicos de lipossolubilidade, vasoatividade do anestésico local, presença de substância vasoconstritora (tipo de vasoconstritor e concentração) e o grau de ligação protéica, não variaram.

Se a principal diferença entre os dois grupos era a presença da hialuronidase e houve diferença significativa no tempo de duração anestésica, logo, esse fator de difusão foi o responsável pelo prolongamento da ação anestésica local. Estes resultados representam um indício, ou seja, um modo indireto de demonstrar que a hialuronidase levou a um remanejamento das moléculas de AL para a fibra nervosa.

Pelo fato da hialuronidase agir sobre as barreiras anatômicas, diminuindo a sua interferência na difusão do anestésico local, altera, portanto, a farmacocinética do agente anestésico local.

Embora a adrenalina e a hialuronidase pareçam ter efeitos opostos, uma impede a difusão e a outra facilita, tal associação de ambos ao AL não é tão ilógica como poderia parecer, porquanto os locos de ação desses agentes são diferentes, determinando o primeiro, maior dificuldade da entrada do fármaco na circulação geral, pelo seu efeito vasoconstritor local (NAFTALIN; YAGIELA, 2002), ao passo que a hialuronidase, determina maior permeabilidade do tecido conjuntivo (WATSON, 1993). O uso de um vasoconstritor associado ao AL tem sido intensamente explorado na literatura, sendo sempre recomendado quando devidamente indicado, por propiciar benefícios como aumento da duração, redução do risco de toxicidade do AL, e ainda, hemostasia local (MALAMED, 2001; NAFTALIN; YAGIELA, 2002).

Neste estudo, o modelo experimental utilizado para avaliar a duração de ação anestésica local foi o procedimento de extração de terceiros molares inferiores. Por ser um procedimento freqüentemente associado a dor de intensidade moderada a severa, é também o modelo mais utilizado para testar outros parâmetros de eficácia clínica, como profundidade anestésica (efeito intrínseco) além de avaliar parâmetros relacionados às seqüelas pós-cirúrgicas como dor aguda pós-operatória, além de edema e trismo, devido à resposta inflamatória ao trauma cirúrgico (BARDEN et al., 2004; GRAZIANI et al., 2005).

Sabe-se que, embora não fosse o objetivo deste estudo avaliar os parâmetros de alterações no pós-operatório, vale comentar que, houve muito poucas queixas com relação aos efeitos indesejáveis (incômodo intenso, sinais

ou sintomas de grande alteração local), mesmo assim, para verificar se a hialuronidase altera a resposta desses parâmetros no pós-operatório seriam necessários estudos posteriores e principalmente de um aumento do tamanho da amostra.

No estudo de Ridenour et al. (2001), foi observado dor e trismo pós-operatório provavelmente devido ao momento em que a hialuronidase foi administrada, ou seja, concomitante ao anestésico local cuja concentração nesse momento provavelmente fosse ser muito maior.

Ainda é incerta a ação da hialuronidase sobre a permeabilidade capilar, mas é preciso salientar que o efeito mais importante da hialuronidase refere-se a um aumento de permeabilidade dos tecidos (WATSON, 1993). Porém, surgiu a dúvida se a hialuronidase provocava difusão do AL para a circulação, aumentando o risco de toxicidade. Como citado anteriormente, o estudo de Nathan et al. (1996) demonstrou em humanos que a hialuronidase não induziu um aumento na concentração plasmática de AL, mas apenas reduziu a latência desse pico de concentração (T_{max}). Mesmo ciente dessa evidência e, embora não fosse o propósito principal deste estudo, avaliou-se paralelamente se a hialuronidase pudesse induzir alguma alteração sistêmica (cardiotoxicidade), através de monitoração cardiovascular (pressão arterial e frequência cardíaca) durante a cirurgia. Não foi relatado pelos pacientes qualquer sinal ou sintoma de reação adversa sistêmica, embora necessite de estudos experimentais posteriores.

Quanto ao método de casualidade ou randomização, pode-se considerar que este estudo foi parcialmente randomizado. O lado que seria realizada a cirurgia foi escolhido de modo aleatório, como também a solução que seria utilizada primeiro (hialuronidase ou placebo). Na cirurgia realizada do outro lado, era necessária a

utilização da outra solução diferente da primeira (em cada paciente sempre foram utilizadas as duas soluções, pois um lado era controle dele mesmo). Se este estudo fosse totalmente aleatório, haveria o risco se utilizar a mesma solução duas vezes (nos dois lados operados) num mesmo paciente. A seleção dos pacientes também não foi aleatória, pois era necessário considerar alguns quesitos de inclusão e exclusão como citados no item 4.1 Casuística.

De posse dos resultados obtidos nesta pesquisa clínica, parece ser promissora a indicação de hialuronidase administrada antes do término do efeito anestésico, pois desta maneira estar-se-ia prolongando a anestesia sem aumentar a quantidade de AL injetada, utilizando as mesmas moléculas de AL que restaram no tecido e evitando complementação anestésica.

Aos pacientes que possuem algum tipo de comprometimento sistêmico em que é recomendada a limitação do número de tubetes, seria indicada a hialuronidase administrada antes do término do efeito de um anestésico de duração intermediária, tornando a duração prolongada e deste modo seria mais indicado do que a utilização de um anestésico de longa duração como, por exemplo, a bupivacaína que já é contra-indicada para estes pacientes devido à sua grande toxicidade. Vale ressaltar que são necessários estudos quanto à indicação da hialuronidase em cada uma das complicações sistêmicas no qual existe a limitação do número de tubetes.

7 CONCLUSÃO

Nestas condições experimentais, pode-se concluir que:

A hialuronidase prolonga a duração de ação anestésica local quando injetada isoladamente antes da regressão do bloqueio nervoso.

REFERÊNCIAS¹

Ahamed S, Ahamed AO. Hyaluronidase revisited – a single injection technique for harvesting split thickness skin grafts under local anesthesia. *Br J Plast Surg* 2004;57(6):589-91.

Brydon CW, Basler M, Kerr MB. An evaluation of two concentrations of hyaluronidase for supplementation of peribulbar anaesthesia. *Anaesthesia* 1995;50(11):998-1000.

Barden J, Edwards JE, McQuay HJ, Moore RA. Pain and analgesic response after third molar extraction and other postsurgical pain. *Pain* 2004;107(1):86-90.

Barr J, Kirkpatrick N, Dick A, Hawksworth G, Noble DW. An evaluation of two concentrations of hyaluronidase on plasma concentrations of lidocaine after peribulbar anaesthesia. *Br J Anaesth* 1995;75(6):692-7.

Borsatti MA, Simonetti MPB, Rocha RG, Penha SS. Hyaluronidase induce long-term analgesia of the EMB S75:R25: a study in the sciatic nerve of the rat in vivo [abstract Hatton 10]. *Bras Oral Res* 2004;18Suppl:18.

Chan SK, Karmakar MK, Chui PT. Local anesthesia outside the operating room. *Hong Kong Med J* 2002;8(2):106-13.

Clement WA, Vyas SH, Marshall JN, Dempster JH. The use of hyaluronidase in nasal infiltration: prospective randomized controlled pilot study. *J Laryngol Otol* 2003;117(8):614-8.

Crawford M, Kerr WJ. The effect of hyaluronidase on peribulbar block. *Anaesthesia* 1994;49(10):907-8.

Duran R. The effect of extracts of certain organs from normal and immunized animals on the infecting power of vaccine virus. *J Exp Med* 1929;50:327-40.

Dempsey GA, Barrett PJ, Kirby IJ. Hyaluronidase and peribulbar block. *Br J Anaesth* 1997;78(6):671-4.

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

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.

Gao F, Budd AJ. Venous levels of lignocaine and bupivacaine after peribulbar block. *Anaesthesia* 1996;51(12):1109-12.

Graziani F, D'Aiuto F, Arduino PG, Tonelli M, Gabriele M. Preoperative dexamethasone reduces post-surgical squeals of wisdom tooth removal. A split-mouth randomized double-masked clinical trial. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2005 available on line <http://www.sciencedirect.com>

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

Hawkins JM, Moore PA. Local anesthesia: advances in agents and techniques. *Dent Clin North Am* 2002;46(4):719-32.

Hibbard BM, Grassie ED. The use of lignocaine and hyaluronidase for pudendal nerve block. *J Obstet Gynaecol Br Emp* 1955;62(6):939-42.

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

Jastak JT, Yagiela JA. Vasoconstrictor and local anaesthesia: a review and rationale for use. *J Am Dent Assoc* 1983;107(4):623-30.

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(4):934-7.

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

Lipp MDW. *Local anesthesia in dentistry*. Chicago: Quintessence; 1993.

Malamed SF. Manual de anestesia local. 4^a.ed. 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(6):876-8.

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

Naftalin LW, Yagiela JA. Vasoconstrictor: indications and precautions. Dent Clin N Am 2002;46(4):733-46.

Nathan, Benrhaïem M, Lofti H, Debord J, Rigaud G, Luchatre G, et al. The role of hyaluronidase on lidocaine and bupivacaine pharmacokinetics after peribulbar blockade. Anesth Analg 1996;82(5):1060-4.

Nicoll JM, Treuren B, Acharya PA, Ahlen K, James M. Retrobulbar anaesthesia: the role of hyaluronidase. Anesth Analg 1986(12):1324-8.

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.

Prado R, Hohn AR, Albuquerque M, Gonçalves SLM. Avaliação da eficácia anestésica da lidocaína a 2% com adrenalina 1:100.000 e mepivacaína 3% sem vasoconstritor. Rev Bras Odontol 2000;57(1):31-3.

Quhill F, Bowling B, Packard RB. Hyaluronidase allergy after peribulbar anesthesia with orbital inflammation. J Cataract Refract Surg 2004;30(4):916-7.

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

Roberts DH, Sowray JH. Analgesia local em odontologia. São Paulo: Santos 1995.

Hawkins JM, Moore PA. Local anesthesia: advances in agents and techniques. Dent Clin North Am 2002;46(4):719-32.

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

Sarvela J, Nikki P. Hyaluronidase improves regional ophthalmic anaesthesia with etidocaine. Can J Anaesth 1992;39(9):920-4.

Soares LM, Helayel PE, Conceição DB, Oliveria Filho GR. Peribulbar block with the association of 0,5% enantiomeric mixture of bupivacaine (S75-R25) and 2% lidocaine: effects of hyaluronidase addition. Rev Bras Anesthesiol 2002;52(4):420-5.

Spallicci MDB. Estudo clínico aleatório com grupo controle e mascaramento duplo da maturação de colo uterino pela hialuronidase em gestações a termo [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Medicina da USP; 2002.

Sterm R. Update on the mammalian hyaluronidases. Matriz Biol 2001;20:497.

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

Wannmacher L. Anestésicos locais. In: Wannmacher L; Ferreira MBC. Farmacologia para dentistas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1995. cap. 15, p. 74-9.

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Esclarecido para a Pesquisa Clínica

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Eu, _____, RG _____, certifico que tendo lido as informações e sido suficientemente esclarecido(a) sobre todos os itens pela pesquisadora Dra Maria Aparecida Borsatti, Anna Carolina R. T. Horliana sobre a pesquisa “Avaliação da duração anestésica sob influência da hialuronidase injetada isoladamente no bloqueio pterigomandibular”, estou plenamente de acordo com a realização do experimento. Assim, autorizo a execução do trabalho de pesquisa, exposto acima, com a minha colaboração espontânea.

Assinatura do paciente _____ nº de matrícula _____

Assinatura da testemunha _____

Prof. Dra. Maria Aparecida Borsatti _____

C.R.O. _____

CD. Anna Carolina R. T. Horliana _____

C.R.O. _____

APÊNDICE B – Dados absolutos - Dados demográficos

Paciente	Gênero	Idade	Peso	Altura	IMC
1.	F	20	68	1,65	24,9
2.	F	25	63	1,68	22,3
3.	M	20	61	1,70	21,2
4.	F	19	48	1,55	19,9
5.	F	18	69	1,65	25,3
6.	F	20	53	1,60	20,70
7.	M	19	78	1,86	22,54
8.	F	23	50	1,49	22,5
9.	F	23	50	1,58	20,0
10.	F	35	72	1,75	23,5
11.	F	27	59	1,60	23,04
12.	F	24	54	1,52	23,3
13.	F	27	60	1,68	21,2
14.	M	25	70	1,70	24,2
15.	M	23	72	1,69	25,2
16.	M	24	65	1,73	21,73
17.	M	25	60	1,68	21,2
18.	F	20	63	1,60	24,6
19.	F	23	55	1,60	21,4
20.	M	24	60	1,70	20,7

APÊNDICE C - Estatística descritiva dos dados demográficos - Dados demográficos

	Idade	Peso	Altura	IMC
Tamanho da amostra	20	20	20	20
Mínimo	18	48	149	19
Máximo	35	82	186	29
Amplitude Total	17	34	37	10
Mediana	23	60.5	166	22
Primeiro Quartil (25%)	20	54.75	160	21
Terceiro Quartil (75%)	25	68.25	170	23.25
Desvio Interquartilico	5	13.5	10	2.25
Média Aritmética	23.2	62	165	22.25
Variância	14.9	85.1	72.9	5.1447
Desvio Padrão	3.9	9.2	8.5	2.2682
Erro Padrão	0.9	2.1	1.9	0.5072
Coeficiente de Variação	16.64%	14.87%	5.18%	10.19%
Assimetria (g1)	1.4	0.5	0.3	1.3399
Curtose (g2)	3.5	-0.2	0.8	2.9098
Média Harmônica	22.666	60.7416	164.5339	22.0505
N (média harmônica)	20	20	20	20
Média Geométrica	22.922	61.3631	164.7414	22.1472
N (média geométrica)	20	20	20	20
Variância (geom.)	1.0107	1.0094	1.0012	1.0041
Desvio Padrão (geom.)	1.1693	1.1584	1.052	1.1022

APÊNDICE D - Tempos cirúrgicos em valores absolutos

Tempo cirúrgico [h(min)] (do início da anestesia local até o término da cirurgia)		
Paciente	Hialuronidase	Placebo
1.	01:07 (67)	54
2.	0:55 (55)	59
3.	01:24 (84)	01:25 (85)
4.	50	51
5.	50	01:16 (76)
6.	01:14 (74)	01:06 (66)
7.	01:27 (87)	01:08 (68)
8.	01:02 (62)	01:06 (66)
9.	35	37
10.	01:02 (62)	01:30 (90)
11.	01:04 (64)	01:04 (64)
12.	51	01:20 (80)
13.	30	46
14.	1:00 (60)	01:22 (82)
15.	01:30 (90)	01:25 (85)
16.	60	01:23 (83)
17.	01:02 (62)	01:01 (61)
18.	01:10 (70)	01:13 (73)
19.	50	33
20.	55	01:18 (68)

APÊNDICE E - Análise descritiva dos tempos cirúrgicos

	Hialuronidase	Placebo
Tamanho da amostra	20	20
Mínimo	30	33
Máximo	90	90
Amplitude Total	60	57
Mediana	61	67
Primeiro Quartil (25%)	50.75	57.75
Terceiro Quartil (75%)	67.75	80.5
Desvio Interquartilico	17	22.75
Média Aritmética	60.9	66.4
Variância	237.8	261.6
Desvio Padrão	15.4	16.2
Erro Padrão	3.4	3.6
Coefficiente de Variação	25.32%	24.38%
Assimetria (g1)	0.1	-0.5
Curtose (g2)	0.2	-0.4
Média Harmônica	56.7446	61.7059
N (média harmônica)	20	20
Média Geométrica	58.9149	64.1882
N (média geométrica)	20	20
Variância (geom.)	1.0327	1.0337
Desvio Padrão (geom.)	1.313	1.3181

APÊNDICE F - Dados de duração pulpar - Estatística descritiva para os dados de duração pulpar
(Software Bioestat versão 3.0)

	Hialuronidase	Placebo
Tamanho da amostra	20	20
Mínimo	50	46
Máximo	203	105
Amplitude Total	153	59
Mediana	106	86
Primeiro Quartil (25%)	89.7500	73.7500
Terceiro Quartil (75%)	124.5000	91.5000
Desvio Interquartilico	34.7500	17.7500
Média Aritmética	110	82,5
Variância	1091.1579	250.0526
Desvio Padrão	33.0327	15.8131
Erro Padrão	7.3863	3.5359
Coeficiente de Variação	30.03%	19.17%
Assimetria (g1)	0.9652	-0.8029
Curtose (g2)	2.2534	0.1304
Média Harmônica	100.9462	78.9538
N (média harmônica)	20	20
Média Geométrica	105.4850	80.8477
N (média geométrica)	20	20
Variância (geom.)	1.0398	1.0202
Desvio Padrão (geom.)	1.3497	1.2396

APÊNDICE G – Teste t de Student (Software GMC versão 8.0) – Dados de duração pulpar

Resultados	
Valor calculado de t	3.66
Graus de liberdade	38
Média da amostra (1)	110.00
Média da amostra (2)	82.50
Probabilidade de igualdade	0.22%
Interpretação	Significante ao nível de 1 % ($\alpha = 0.01$)

APÊNDICE H - Teste para calcular o tamanho da amostra (Software Bioestat versão 3.0) dados de duração gengival

Tamanho: t teste duas amostras

Imprimir

Entrada de dados

	1a. amostra	2a. amostra
Média	110	82.5
Desvio padrão	33	15
Relação entre as amostras	Amostra 1 1	Amostra 2 1
Poder do teste	.95	
Nível alfa	.05	
☐ Teste Unilateral. ☒ Teste Bilateral		

Resultados

Tamanho da 1a. amostra	23
Tamanho da 2a. amostra	23

Cancelar

APÊNDICE I - Estatística descritiva para os dados de duração gengival (Software Bioestat versão 3.0)
Dados da duração gengival

	Hialuronidase	Placebo
Tamanho da amostra	20	20
Mínimo	80	59
Máximo	172	130
Amplitude Total	92	71
Mediana	115.5	95.5
Primeiro Quartil (25%)	106.5000	79.0000
Terceiro Quartil (75%)	140.7500	112.7500
Desvio Interquartilico	34.2500	33.7500
Média Aritmética	121.4	95.1
Variância	595.6	431.3
Desvio Padrão	24.4	20.8
Erro Padrão	5.5	4.6
Coefficiente de Variação	20.11%	21.84%
Assimetria (g1)	0.3	-0.1
Curtose (g2)	-0.5	-1.0
Média Harmônica	116.7442	90.5147
N (média harmônica)	20	20
Média Geométrica	119.0346	92.8449
N (média geométrica)	20	20
Variância (geom.)	1.0179	1.0229
Desvio Padrão (geom.)	1.2239	1.2567

APÊNDICE J - Teste t de Student (Software GMC versão 8.0) – Dados da duração gengival

Resultados	
Valor calculado de t	3.66
Graus de liberdade	38
Média da amostra (1)	121.35
Média da amostra (2)	95.10
Probabilidade de igualdade	0.10%
Interpretação	Significante ao nível de 1 % ($\alpha = 0.01$)

APÊNDICE L - Teste para calcular o do tamanho da amostra (Software Bioestat versão 3.0) – Dados para a duração gengival

Tamanho: t teste duas amostras

Imprimir

Entrada de dados

	1a. amostra	2a. amostra
Média	95.1	121.3
Desvio padrão	20	24
Relação entre as amostras	Amostra 1 1	Amostra 2 1
Poder do teste	.95	
Nível alfa	.05	
☐ Teste Unilateral. ☒ Teste Bilateral		

Resultados

Tamanho da 1a. amostra	18
Tamanho da 2a. amostra	18

Cancelar

APÊNDICE M – Desenho esquemático da estrutura das proteoglicanas ligadas às grandes cadeias de polímeros de ácido hialurônico

ANEXO A - Parecer de Aprovação pelo 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 duração anestésica sob influência da hialuronidase injetada isoladamente no bloqueio pterigomandibular.

Candidata: Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana

Orientadora: Maria Aparecida Borsatti

1. Justificativa da Pesquisa:

Entre os anestésicos locais em uso na odontologia, a mepivacaína é considerada um anestésico de média duração da anestesia, média potência. Por essas razões, é principalmente indicada para realização de extração de dentes erupcionados ou semi-inclusos e de outros tratamentos como os endodônticos ou restauradores. Quando associada à epinefrina, a duração da anestesia chega a ser de uma hora. A mepivacaína é um anestésico do tipo amida, no qual a incidência de alergia praticamente inexistente.

Sabe-se que a complementação anestésica, às vezes necessária nos bloqueios do nervo alveolar inferior, utilizando-se de administrações adicionais de anestésico podem levar a um aumento da concentração do anestésico e conseqüentemente induzir aos efeitos indesejáveis (alteração de pressão arterial e dos batimentos cardíacos). O uso da associação de anestésico local (AL) à hialuronidase (que é um fator que melhora a difusão do AL nos tecidos), injetados concomitantemente, tem melhorado muito as anestésias locais na área oftalmológica, porém, em odontologia (especialmente em bloqueios do nervo alveolar inferior), o sucesso dessa associação (AL e Hialuronidase) ainda é controversa.

Como apenas uma pequena quantidade do AL injetado penetra no nervo (1,6%), e o uso de hialuronidase após a injeção de AL poderia aumentar a quantidade de AL dentro no nervo e aumentar a sua duração anestésica, resolvemos inicialmente injetar a solução anestésica local (mepivacaína com adrenalina) e antes de terminar o seu efeito anestésico, injetaremos a hialuronidase (ou água destilada), e verificar sua eficácia em aumentar a duração anestésica.

2- Objetivo

Verificar se a hialuronidase é capaz de prolongar a duração de ação anestésica local quando injetada isoladamente antes da regressão do bloqueio nervoso.

3. Material e Métodos

3.1. Seleção de Voluntários

Serão selecionados 20 voluntários com pressão arterial e saúde normal, de ambos os sexos, de 18 a 35 anos de idade. Deverão apresentar necessidade de extração de dois 3º molares inferiores (dente do ciso), em posição semelhante entre eles.

Os pacientes voluntários participantes da pesquisa não deverão fazer uso de qualquer outra medicação, no período de 15 dias antes da primeira consulta clínica ou entre as consultas (somente a indicada pela cirurgia dentista). Não serão aceitas gestantes, fumantes ou pacientes alérgicos a qualquer medicamento utilizado na pesquisa ou similar. As pacientes do sexo feminino serão agendadas para as consultas logo após o período menstrual.

3.2. 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 em que não sente mais o toque de um instrumento na sua gengiva

Para se obter o tempo de demora para começar a anestesia e a duração do efeito anestésico no **dente (polpa)**: Será realizado um teste elétrico.

Como será feito o teste elétrico?

Será feito com um aparelho que possui uma ponta (sonda) que encostada no dente provoca uma sensibilidade na polpa do dente.

Em que momento será feita a aplicação do teste elétrico no dente?

A cada 2 minutos desde a retirada da agulha após a anestesia local, até o momento em que o dente não tem mais dor ao teste, e a cada 10 minutos até o retorno da sensibilidade do dente ao teste, ou seja, somente enquanto dura a anestésica local.

3.3. Para Avaliação da Pressão Arterial e Frequência Cardíaca:

A aferição da pressão arterial e da frequência cardíaca (batimentos do coração) será feita através do Monitor Automático de Pressão Sangüínea não Invasivo (Modelo Schollar, Criticare System – USA) de minuto em minuto, desde a chegada do paciente e até 20 minutos do término da cirurgia.

3.4. Drogas utilizadas:

a) - cloridrato de mepivacaína 2% associado à adrenalina 1:100.000 .

b) – Hialuronidase 75 UI/ml

c) – Água destilada para injetáveis

Observação: a hialuronidase e a água destilada para injetáveis receberão um código no frasco para identificação que não será divulgado ao paciente e ao 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 3^o molares inferiores (com indicação devido à má posição dental ou razão protética, etc), com efeito anestésico prolongado e analgesia após a cirurgia, reduzindo a necessidade de uso de drogas analgésicas. Espera-se que a pesquisa trará benefícios à odontologia por fornecer informação e comprová-la por evidências clínicas da possibilidade de um protocolo de tratamento mais indolor para o paciente.

6- Desconforto ou risco esperado:

- Poderá ocorrer algum efeito estimulante decorrente do efeito do vasoconstritor.
- Inconveniente de ficar aguardando uma hora de pós-operatório, para a avaliação da analgesia.
- Inconveniente de ficar aguardando o término do efeito anestésico

7-Informações:

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

8-Retirada do Consentimento:

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

9-Os pesquisadores assumem o compromisso:

De proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, e ainda que esta possa afetar a vontade do indivíduo em continuar participando.

10-Sigilo:

Toda e qualquer informação obtida na pesquisa será confidencial.

11-Disponibilidade:

Estamos à disposição a qualquer informação ou queixa por parte do paciente, podendo ligar para seguintes telefones: 3091-7893 ou 3039-9402, com Profa. Cida.

ANEXO C – Ficha de Anamnese

Nome _____ RG _____

Endereço _____

CEP _____ Bairro _____ Tel.: _____

Data nasc. ____/____/____ Estado civil _____ Profissão _____ Cor _____

Anamnese: _____ Data ____/____/____

1) Você está sentindo algum tipo de dor ou desconforto no momento? _____

2) Você está fazendo algum tratamento médico atualmente? _____ Motivo? _____

3) Está tomando alguma medicação? Qual(is)? _____

4) Você já teve alguma reação alérgica a algum medicamento, alimento ou outro produto? _____

5) Você já se submeteu a anestesia local? _____

6) Você teve algum tipo de reação adversa à essa anestesia? _____

7) Você já foi submetido à alguma cirurgia ou foi hospitalizado? _____

8) Você já recebeu transfusão de sangue? _____

9) Já teve hemorragia? _____

11) Qual (is) destes sintomas ou doenças você tem ou já teve?

Hipertensão	pneumonia	diabetes
Hipotensão	tuberculose	perda de peso (+5 kg)
Dor de cabeça	sinusite	ganho de peso (+5kg)
Asma	febre reumática	hepatite ou icterícia
Bronquite	gastrite	distúrbios hepáticos
Epilepsia	anemias	doenças venéreas
Problemas renais	desmaio	distúrbios psíquicos

12) Se sente cansado com frequência? _____ Sente falta de ar? _____

13) Tem dificuldade de respirar quando este deitado? _____

13) Sente dor no peito depois de esforço ou sob tensão? _____

14) Quando mediu a sua PA pela última vez? _____ Como estava? _____

15) Tem alguma doença cardíaca congênita ou adquirida (ex. mal de chagas...)? _____

16) Tem ou teve algum sintoma ou doença não citada acima? _____

17) Você está grávida? _____

18) Você fuma? _____

19) Você faz uso de bebidas alcoólicas ou outras drogas? _____

20) Você ingeriu bebida alcoólica nas últimas 4 horas? _____

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

Ass. _____ data ____/____/____