TALITA GIRIO CARNAVAL

Influência da codeína, associada ou não ao anestésico local, na duração do bloqueio sensitivo, motor e proprioceptivo do nervo ciático de rato

São Paulo

2011

TALITA GIRIO CARNAVAL

Influência da codeína, associada ou não ao anestésico local, na duração do bloqueio sensitivo, motor e proprioceptivo do nervo ciático de rato

Versão Original

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas.

Área de Concentração: Clínica Integrada

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Adde

São Paulo

2011

Carnaval TG. Influência da codeína, associada ou não ao anestésico local, na duração do bloqueio sensitivo, motor e proprioceptivo do nervo ciático de rato. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas.

Aprovado em: ________\2011

Banca examinadora

Prof(a). Dr(a)_____Instituição:_____

Julgamento:_____Assinatura:_____

Prof(a). Dr(a)_____Instituição:_____

Julgamento:_____Assinatura:_____

Prof(a). Dr(a)_____Instituição:_____

Julgamento:_____Assinatura:_____

À **Deus**,

pela dádiva de uma vida repleta de saúde e pela graça de ter me permitido concluir este trabalho como mais uma etapa importante de meu caminho.

Aos meus pais **Pedro e Leonor**,

pelo exemplo de caráter e de conduta embasada na humildade.

Ao meu irmão **Rogério**,

Por sua amizade e companheirismo

A **Alexander**,

por sempre acreditar no meu potencial, mesmo quando eu mesma não conseguia enxergá-lo.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador e amigo **Prof Carlos Alberto Adde**, muito obrigada por tudo! por todos os votos de confiança, pelos ensinamentos, pelos caminhos, pelos conselhos, pelos exemplos de condutas, por ter sido importante em todos momentos e fases da minha formação profissional até o amadurecimento desta dissertação e acima de tudo, pelo diferencial de ter em meu orientador um amigo a quem posso contar com palavras em todas as minhas conquistas e dificuldades. É uma honra e grande alegria tê-lo como meu orientador. Mais uma vez, muito obrigada!

À **Profª Maria Aparecida Borsatti**, por ter dividido comigo suas grandes idéias científicas, pela confiança em meu trabalho, por todos ensinamentos e idéias sem as quais este trabalho não estaria desenvolvido, por me oferecer parte do seu precioso tempo, por todos os conselhos, e acima de tudo, por todo carinho e profissionalismo que me ofereceu por todo este tempo. Muito obrigada!

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof Victor Elias Arana-Chavez**, responsável pelo Laboratório de Biologia Oral (LBO), agradeço pela acolhida em todo o período de realização deste trabalho.

À **Prof^a Marinilce Fagundes dos Santos**, obrigada por ter mais uma vez colaborado com a Disciplina de Clínica Integrada oferecendo sua disposição pessoal e material para auxiliar em nossa pesquisa.

Aos professores da Disciplina de Clínica Integrada **Prof^o Rodney Garcia Rocha, Prof^o Flávio Eduardo Guillin Perez, Prof^o Marcelo M. Romano, Prof^o Waldyr Antonio Jorge, Prof^o Mario Sérgio Soares, Prof^o José Leonardo Simone, Prof^a Isabel Peixoto, Prof^a Sibeles Sarti Penha, Prof^a Inês A. Buscariollo e Prof^a Carina Domaneschi**, obrigada por terem me recebido junto ao corpo docente deste Departamento.

À minha amiga **Roberta Moura Sampaio** por todas conversas, pelo carinho, pelas palavras sinceras de confiança, pela amizade e por todos os chás da tarde que me permitiram enriquecer este trabalho e minha vida pessoal.

À **Gisele Ebling Artes** por sua colaboração em minhas atividades laboratoriais e por sua companhia durante toda a pós-graduação.

A todos os colegas de pós-graduação e da Clínica Integrada que dividiram comigo momentos de ensinamentos e conquistas, permitindo-me ter mais forças para o desenvolvimento desta dissertação.

O especialista é um homem que sabe
cada vez mais sobre cada vez menos, e
por fim, acaba sabendo tudo sobre nada.

Bernard Shaw

RESUMO

Carnaval TG. Influência da codeína, associada ou não ao anestésico local, na duração do bloqueio sensitivo, motor e proprioceptivo do nervo ciático de rato (Dissertação de Mestrado). São Paulo. Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2011. Versão Original.

A melhora na eficácia do bloqueio sensitivo induzida pela associação ou injeção prévia do opióide tramadol foi comprovada em animais e em humanos, sugerindo potencialização ou sinergismo de efeitos. No entanto, ainda não há estudos sobre a influência da associação da codeína ao anestésico local (AL) injetada concomitante ou previamente ao bloqueio funcional (sensitivo, motor e proprioceptivo) do nervo ciático. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi estudar a influência do analgésico opióide codeína na duração do bloqueio nervoso ciático de rato induzido por lidocaína, através de novos protocolos farmacológicos. Para isso, foi realizada uma análise da função sensitiva, proprioceptiva e motora desse nervo misto, comparando-se os efeitos da injeção prévia ou concomitante da codeína. Foram utilizados 80 ratos machos Wistar para serem avaliados funcionalmente após o recebimento na região do nervo ciático de soluções injetáveis dos diferentes fármacos: lidocaína com epinefrina (AL), AL sem vasoconstritor (AL SV), codeína (COD), tramadol (TRAM), AL + codeína (AL + COD), AL + tramadol (AL + TRAM), codeína 20 min antes do AL (COD 20' + AL) ou tramadol 20 min antes do AL (TRAM 20' + AL). O bloqueio sensitivo foi considerado o período de ausência do reflexo de retirada da pata após estímulo nociceptivo-pressórico (analgesímetro e pinça mosquito), já o bloqueio motor pela duração da claudicação (ausência do reflexo extensor postural) e o proprioceptivo, pela ausência de resposta do salto e tato (escore 0-3). A duração de ação do (AL + COD) foi maior ($p < 0.01$) que a (COD) e que (COD 20' + AL) e os outros grupos ($p < 0.05$). O COD isolado mostrou discreta atividade nociceptiva. Os resultados sugerem sinergismo de atividade entre opióide e AL. O uso concomitante de codeína ao AL melhora a eficácia do

bloqueio sensitivo, motor e proprioceptivo, abrindo nova perspectiva no controle da dor a ser estudada em Odontologia.

Palavras-chave: Codeína. Anestésico local. Tramadol. Opióide. Bloqueio nervoso.

ABSTRACT

Carnaval TG. Influence of codeine, associated or not to local anaesthetic, on sensitive, motor and proprioceptive block duration of rat sciatic nerve [dissertation] São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2011. Versão Original.

The improvement in sensitive blockade induced by association or previous tramadol opioid injection was proved in animals and humans suggesting potencialization or synergism in effects. Nevertheless, there are no experiments about the influence of codeine association to local anesthetics (LA) injected simultaneously or previously to block sciatic nerve functions (sensitive, motor and proprioceptive). The propose of this experiment was evaluate the influence of codeine analgesic opioid on duration of rat sciat nerve blockade induced by lidocaine using new pharmacological protocols. It was analyzed the nociceptive, motor and proprioceptive functions of this mist nerve comparing the effects of previous or associated injection of codeine. Eighty (N=80) Wistar male rats were functional avaliated after they received differents injected drugs solutions, in sciat nerve region: lidocaine and epinephrine (LA), local anesthetics with no vasoconstrictor (LA NV), codeine (COD), tramadol (TRAM), LA + codeine (LA + COD), LA + tramadol (LA + tramadol), codeine 20 minutes previously to LA (COD 20' + LA) or tramadol 20 minutes previously to LA (TRAM 20' + LA). The sensitive blockade was considered the absence of withdraw reflex after nociceptive and pressoric stimulous (analgesimether and forceps), the motor was evaluated the duration of claudication and proprioceptive by de absence of hopping and tactile response (score 0-3). We concluded that the blockade duration of (LA + COD) was greater than (COD) ($p<0.01$) and than (COD 20' + LA) and than other groups ($p<0.05$). Codeine isolated showed discret nociceptive action. Our results suggested synergism between opioid and LA. The associated use of codeine and LA improves de efficacy of sensitive, motor and proprioceptive blockade guiding to a new prospect in dentistry's pain control.

Keywords: Codeine. Local Anesthetics. Tramadol. Opioid. Nerve block.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AL	Anestésico Local
AL SV	Anestésico local sem vasoconstritor
COD	Codeína
EAV	Escala Analógica Visual
EP	Erro Padrão
Kg	Quilograma
Mg	Miligrama
mL	Mililitro
NTS	Núcleo do Trato Solitário
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
TRAM	Tramadol

LISTA DE SÍMBOLOS

Na ⁺	Sódio
K ⁺	Potássio
Ca ⁺	Cálcio
CYP 2D6	isoenzima do sistema citocromo P450
-OH	Hidroxila
μ	mi
κ	kappa
δ	delta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1 OS OPIÓIDES CODEÍNA, TRAMADOL E SEUS ISÔMEROS	21
2.2 MECANISMOS DE AÇÃO DOS OPIÓIDES	31
3 PROPOSIÇÃO	37
4 MATERIAL E MÉTODOS	38
4.1 MATERIAL	38
4.1.1 Animais	38
4.1.2 Critérios de inclusão.....	38
4.1.3 Material de consumo e permanente	39
4.1.3.1 Material de consumo – biossegurança	39
4.1.3.2 Análise funcional e descrição dos fármacos	40
4.1.3.3 Composição dos opióides.....	41
4.1.3.4 Divisão dos grupos	42
4.1.4 Material permanente	43
4.1.4.1 Avaliação do bloqueio sensitivo.....	43
4.2 MÉTODOS	44
4.2.1 Avaliação funcional do bloqueio periférico	45
4.2.1.1 Técnica do bloqueio do nervo ciático	46
4.2.1.2 Avaliação da nocicepção	46
4.2.1.3 Avaliação da função motora	48
4.2.1.3 Avaliação da propriocepção através da resposta ao salto e localização tátil	49
4.2.2 Estudos estatísticos	50
5 RESULTADOS	51
5.1 DADOS DEMOGRÁFICOS	52
5.2 DURAÇÃO DO BLOQUEIO SENSITIVO	52
5.3 DURAÇÃO DO BLOQUEIO MOTOR	58
5.4 DURAÇÃO BLOQUEIO PROPRIOCEPTIVO	61
5.5 COMPARAÇÃO ENTRE OS TIPOS DE BLOQUEIOS	64
5.6 OCORRÊNCIA DE EFEITOS ADVERSOS	65
6 DISCUSSÃO	66
CONSLUSÕES	81
REFERÊNCIAS.....	82
ANEXOS	90

1 INTRODUÇÃO

Principalmente nos procedimentos cirúrgicos e endodônticos na clínica odontológica, um dos fatores preponderantes para sucesso é o bem estar do paciente. Atualmente, existem vários métodos para o controle dos processos algícos, sendo a terapêutica medicamentosa, sem dúvida, o mais usado e difundido mundialmente. Entretanto, ainda se observa que a utilização de único fármaco pode não ser suficiente para se alcançar o conforto esperado pelo paciente. Já a administração concomitante de diferentes, além de ainda ser uma dificuldade diária vivida pelo cirurgião-dentista pela infinidade de interações e alguma limitação de conhecimentos em farmacologia, é considerada uma ameaça ao bem estar físico e a rotina social do paciente.

O controle efetivo da dor durante os procedimentos clínicos odontológicos delicados e no pós-operatório objetivando o mínimo de efeitos secundários é importante, pois permite que o paciente abandone o ambiente ambulatorial com o máximo de conforto, mobilidade bimaxilar preservada e reabilitação em repouso menos traumática possível (Reuben; Connelly, 1995).

As terapias analgésicas para o controle da dor frequentemente concentram-se no uso de 5 classes de medicamentos: analgésicos, antiinflamatórios não esteroidais (AINES), opióides, anestésicos locais e adjuvantes (antidepressivos, anticonvulsivantes, etc) (Sawynok, 2003).

O anestésico local (AL) sendo a primeira escolha do cirurgião-dentista antecede o procedimento clínico e confere conforto ao paciente. No entanto, a injeção de AL, por si só, é um fator de estresse. Em muitos casos não é suficiente para dar o conforto esperado, principalmente em pacientes com o nível de ansiedade elevado como transtornos psíquicos e do pânico, além de alterações sistêmicas e/ou neurológicas que dificultem o tratamento.

Embora os ALs modernos sejam efetivos e seguros para a maioria das práticas clínicas, ainda há pacientes com necessidade de maior conforto, nestes casos há uma intensa pesquisa que há anos busca por agentes de longa duração, melhor seletividade nervosa, menores graus de bloqueio motor e menores

incidência de toxicidade sistêmica. Assim, as investigações se intensificaram na busca de: novos compostos anestésico, drogas com propriedades anestésicas associadas, avanços no sistema de disponibilidade e adjuvantes aos ALs. Sendo os opióides e as cápsulas lisossomais de distribuição considerados os adjuvantes anestésicos de maiores frutos nesta área (Willes; Nathanson, 2010).

As associações farmacológicas são recomendadas principalmente para o tratamento da dor. O objetivo destas é alcançar analgesia suficiente conseguindo a adição ou o sinergismo dos efeitos esperados dos analgésicos, concomitantemente à redução dos efeitos secundários para o menor patamar possível. Neste âmbito, alguns adjuvantes de anestésicos locais atualmente têm sido propostos para o implemento da qualidade e duração da anestesia local e, também, a analgesia trans e pós-operatória. Anti-hipertensivo (clonidina), antidepressivos e opióides incluindo o tramadol e a codeína são exemplos (Kapral et al., 1999; Roubaux et al, 2004; Strumper; Durieux, 2004).

A fim de solucionar a dor extrema nos pacientes que necessitam maior conforto, a literatura tem mostrado várias tentativas de encontrar a melhor terapia para cada procedimento. Em trabalhos recentes, fica evidente que a associação entre diversos fármacos têm resultados melhores do que o seguimento das terapias convencionais estabelecidas. Dentre essas combinações, estão o rofecoxib, diclofenacos e tramadol (Hirsch et al., 2007).

Tanto o tramadol quanto a codeína são analgésicos opióides de ação central cuja associação a outros fármacos como AL e analgésicos tem reduzido a ocorrência de efeitos adversos, além de produzir um grau equivalente ou maior de analgesia. São associações já estabelecidas na área médica: o uso de paracetamol + codeína; paracetamol + tramadol; e anestésico local + tramadol, sendo que o produto destas combinações de opióides a outros fármacos tem demonstrado a produção de sinergismo nos efeitos analgésicos (Raffa, 2001).

Entre essas, a associação de AL a opióides tem melhorado a eficácia clínica do AL, ao prolongar a duração do bloqueio sensitivo demonstrado com o tramadol em algumas espécies animais (Cliff et al., 2005; Kaabachi et al., 2009; Mert et al., 2002; Pozos et al., 2006).

Há também estudos clínicos que sugerem que a associação de analgésico opióide tramadol ao AL, tem prolongado a duração da anestesia local, porém tal efeito ainda não foi testado com outros opióides (Pozos et al., 2007).

O efeito da associação (opióide e AL) na duração da anestesia e analgesia ainda não está bem elucidado (Remy et al., 2006). Sabe-se que os ALs agem bloqueando a entrada dos íons sódio em seus canais, prevenindo o aumento da permeabilidade da membrana do nervo a este íon, o que é necessário para que ocorra o potencial de ação (Hass, 2002).

Já os opióides agiriam por mecanismos diferentes do AL, sendo via receptores opióide-específicos ou através de receptores acoplados a canais iônicos, o que ocasionaria alterações no maquinário e equilíbrio celular (North, 1993).

Há muitas investigações quanto aos efeitos do tramadol tanto isolado quanto em associação, no entanto não há relatos sobre bloqueio sensitivo, motor e proprioceptivo de ratos quanto à sua associação ao AL. Além disso, também não foi estudada, nem em animais nem em humanos, a influência da associação de codeína ao AL injetado concomitante ou prévio ao bloqueio funcional do nervo ciático.

Existem comprovações recentes de sinergismo na associação de codeína com o paracetamol comprovado em ratos através do método Hargreaves de hipernocicepção térmica (Ortiz et al., 2007). E na associação entre codeína e o diclofenaco sódico para a diminuição de nocicepção estimulada por teste de formalina em ratos (Jiménez-Andrade et al., 2003). Enfim, já foram elucidadas várias vezes o sinergismo da codeína com analgésicos e inibidores de ciclooxigenases, todavia ainda não há investigações quanto ao sinergismo de ação com o AL.

Esta possibilidade de sinergismo obtendo-se o máximo de antinocicepção com doses mínimas ativas das drogas tem uma atração terapêutica considerável, sendo particularmente valiosa quando há aumento da eficácia sem aumento dos efeitos indesejáveis (Mitchell et al., 2010).

Dessa forma, observa-se que a associação da codeína como adjuvante ao AL poderia abrir uma nova perspectiva no controle de processos álgicos agudos, aumentando o conforto, diminuindo o estresse, os tipos e quantidades de medicações administradas, o que poderia proporcionar menos riscos principalmente nos pacientes com necessidade de conforto especial.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A analgesia preemptiva pode ser definida como um tratamento antinociceptivo que previne o estabelecimento das alterações centrais originadas do sítio de injúria. A condição mais importante para o estabelecimento de uma analgesia preemptiva efetiva é um nível alcançado de antinocicepção antes da promoção da injúria e a continuação deste nível de analgesia no período pós-injúria para que previna a sensibilização central durante a fase inflamatória (Kelly et al., 2001).

A razão para obter analgesia antes que o estímulo doloroso ocorra é prevenir ou reduzir a dor subsequente. Já o efeito da analgesia preemptiva é prevenir ou reduzir o desenvolvimento de qualquer “memória” do estímulo de dor no sistema nervoso (Pozos et al, 2007).

A primeira citação do uso de um AL foi em 1884, quando Koller usou pedras de cocaína para anestésiar a conjuntiva antes de uma cirurgia. Inicialmente este fato causou entusiasmo e espalhou seu uso pela clínica médica, no entanto com a alta incidência de toxicidade e morte este uso passou a ser restrito. Até que em 1904, Einhorn desenvolveu o primeiro AL verdadeiro, a procaína que aumentou a popularidade do uso AL, todavia em virtude da alta incidência de anafilaxia associada ao composto éster, seu uso se tornou limitado e logo foi substituída pelos ALs do grupo amida, lidocaína em 1943 e bupivacaína em 1963. Mesmo com tanto advento no desenvolvimento das ALs ainda se espera o desenvolvimento do AL ideal. Embora os ALs modernos sejam efetivos e seguros para a maioria das práticas clínicas, ainda há uma intensa pesquisa por agentes de longa duração de ação, melhor seletividade nervosa, menores graus de bloqueio motor e menores incidência de toxicidade sistêmica (Wiles; Nathansom, 2010).

Considerando-se estes aspectos, as pesquisas se intensificaram por novas buscas como: novos compostos (componentes quirais, butil, amino-benzoato, tonicaína e n-butil tetracaína, articaína e toxinas animais); drogas com propriedades anestésicas (sameridina e petidina, antidepressivos); avanços no sistema de disponibilidade (sistema lipossomal, microesferas e ciclodestrinas) além dos adjuvantes aos anestésicos locais (agonista alfa 2-adrenoreceptor,

adrenalina, tramadol, midazolam, dextrinas, neostigminas, bloqueadores neuromusculares, antagonistas de receptores NMDA – magnésio e ketamina, esteróides e opióides). Sendo que até agora os opióides e o sistema de disponibilidade lipossomal são considerados os maiores frutos nas investigações (Wiles; Nathansom, 2010).

Tendo em vista que é essencial nas práticas odontológicas atuais segurança e controle efetivo da dor, os fármacos conhecidos como ALs são fundamentais em qualquer procedimento clínico. Este controle da dor é um importante fator para reduzir o medo e a ansiedade associada aos procedimentos ambulatoriais. Assim sendo, a AL é induzida quando se previne a propagação de potenciais de ação, então a sensação não poderá ser transmitida do seu sítio de estímulo, como o dente ou periodonto, para o cérebro (Pozos et al., 2006).

Para esta prevenção de dor, recentes estudos mostram que a combinação de dois diferentes tipos de modalidades analgésicas, opióides com anestésicos locais, poderia reduzir a incidência, a severidade da dor e da ansiedade dos pacientes (Kwak et al., 2007). No entanto, não há relatos na literatura do uso combinado de codeína prévio ou concomitante ao AL.

O estudo da associação de fármacos exige um conhecimento estreito de seus mecanismos de ação e particularidades. Os anestésicos locais estão disponíveis como sais (geralmente na forma de cloridrato), que bloqueiam reversivelmente a condução do impulso nervoso. Seu mecanismo de ação está ligado ao bloqueio dos canais de sódio (Na^+), impedindo a despolarização neuronal, o que mantém a célula em estado de repouso, assim age paralisando as terminações nervosas sensitivas periféricas, ou então, interrompendo a transmissão da sensibilidade à dor entre terminações (nociceptores) e o encéfalo (Hass, 2002).

Estes canais de Na^+ têm um papel importante no estímulo celular, principalmente em nervos e músculos, onde geram uma corrente rápida e interna que permite a condução do estímulo doloroso pelo axônio. Então, essa estrutura também é alvo de diversas classes de drogas, incluindo anestésicos local, analgésico, antiepiléptico, antidepressivo e antiarrítmico. (Hashimoto et al., 2009).

A hipótese mais aceita que explica o mecanismo de ação dos AL se baseia na *teoria do receptor específico*, segundo a qual os AL, na sua forma não-ionizada, atravessam a membrana do axônio, penetram a célula nervosa e se

ligam a receptores específicos nos canais de sódio, reduzindo ou impedindo a entrada do íon na célula. Fato que resulta no bloqueio da condução nervosa, e conseqüentemente, na não percepção da dor. Os ALs podem inibir a condução nervosa não apenas do tecido nervoso periférico, mas também no SNC e outros tecidos excitáveis como células de músculos cardíacos, esqueléticos e liso (Andrade, 2005).

Pensando-se neste bloqueio de condução nervosa, é importante que o paciente encontre conforto tendo a anestesia e analgesia satisfatórias para o procedimento ambulatorial. Neste aspecto, existe uma tendência de administração pré-operatória também de analgésicos para a redução da dor trans e pós-operatória, sendo uma alternativa para o controle da dor a maximização dos níveis de fármacos no sítio do tecido injuriado através da administração local das drogas e da minimização de suas exposição sistêmicas (Pozos et al., 2007).

Considerando-se estas possibilidades, os opióides são potentes analgésicos de ação central conhecidos por inibirem as transmissões sinápticas através da ativação de receptores específicos nos terminais nervosos resultando em antinocicepção (North, 1993). Também são conhecidos por sua estereoespecificidade e possibilidade de indução de dependência (Thuy; Louis, 1980). Além de sua capacidade de efeitos anestésicos locais (Willes e Nathanson, 2010), sendo, portanto, fármacos promissores para o uso adjuvante e a maximização dos efeitos anestésicos e analgésicos.

2.1 OS OPIÓIDES CODEÍNA, TRAMADOL E SEUS ISÔMEROS

A codeína (3-metilmorfina) é um alcalóide de origem natural presente na papola, *Papaver somniferum*, que foi isolada pela primeira vez em 1833 por Pierre-Jean Robiquet. Representa aproximadamente do 0,5% do ópio, que continua a ser uma fonte útil para a sua obtenção, todavia a maior parte da codeína usada na medicina é atualmente sintetizada quimicamente por metilação da morfina (Williams et al., 2001).

É encontrada associada ao paracetamol para o uso oral ou injetável isolada (sem paracetamol) para o uso hospitalar no controle da dor e tosse severa, sendo considerada um agonista seletivo da classe dos opióides (Millo et al., 2006).

Assim como o paracetamol, também existem evidências que mostram o efeito anti-proprioceptivo periférico para a codeína (Ortiz et al., 2005).

É considerada com pequena afinidade a receptores opióides específicos, também produzindo seu efeito analgésico pela formação de morfina após sua biotransformação por enzimas do grupo citocromo no fígado (Andrade, 2005). Tem propriedades analgésicas e também antitussígena sendo a inibição da tosse atingida a doses inferiores a necessária para analgesia (Sevelius et al., 1971).

Quanto a suas características farmacológicas apresenta elevada e rápida absorção no trato gastrointestinal, tendo pico sérico atingido ao fim de uma hora e biodisponibilidade de cerca de 50%. O volume de distribuição é de 3,5 mg/Kg depois de uma administração oral e de 2,6 mL/Kg após uma administração injetável intramuscular. Sua ligação às proteínas plasmáticas é de 7 a 25%, já o tempo de meia-vida no plasma é entre 2,5 e 4 horas. O metabolismo realiza-se principalmente no fígado, onde sofre biotransformação por reações de fase I e de fase II. O CYP 2D6 (isoenzima do sistema citocromo P450) catalisa a O-desmetilação da codeína a morfina que é, depois, conjugada com o ácido glucurônico. Esta ocorre nos grupos 3- e 6-OH originando a morfina-3-glucuronido e a morfina-6-glucuronido. A codeína pode, também, sofrer N-desmetilação, pela CYP 3A4 originando norcodeína ou ainda ser conjugada diretamente com o ácido glucurônico, originando codeína-6-glucuronido. A taxa de metabolização é de 30mg/hora. Já a eliminação é realizada, principalmente, através do rim, sendo o valor de *clearance* de 10-15 mL/min/Kg. Cerca de 86% da codeína administrada é excretada nas primeiras 24h na forma de norcodeína, morfina livre ou conjugada. Os conjugados de morfina também podem ser excretados pelos canais biliares para o intestino onde sofrem hidroxilação voltando, muitas vezes, a ser reabsorvidos (circulação entero-hepática) (Katzung, 2007; Kirchheiner et al., 2007).

Figura 2.1 - Transformação de codeína em morfina após sua biotransformação no fígado

Assim como o tramadol, a codeína é considerada um dos opióides melhores tolerados. Erichsen et al. (2005), ao observarem os efeitos tóxicos de opióides na alteração da motricidade de ratos através do teste de rotação, concluíram que à administração subcutânea (120, 480, 960 mg/Kg) de codeína não interferiram na função motora do animal aos 30 e 60 min de observação. Em contrapartida, a morfina (6, 12 e 24 mg/Kg) provocou uma ataxia dose-dependente e a metadona (1, 3 e 6 mg/Kg) também provocou prejuízo à função motora do animal.

Alguns opióides, incluindo a codeína, seriam constituídos por sua estereoespecificidade, sendo compostos por dois isômeros com atividades e espectro de ação diferente (Garrido et al., 2000).

A mistura racêmica é composta por dois isômeros a *l*-codeína e *d*-codeína cujos efeitos vêm sendo investigados. Segundo estudos em ratos de Thuy e Louis (1980), com doses de 5mg/Kg ou 10mg/Kg o isômero *l*-codeína demonstrou boa atividade nociceptiva e competição com a dihidromorfina pelos mesmos sítios de ação, isto é, em receptores opióides específicos. Já a *d*-codeína não apresentou efeitos nociceptivos significativos, sendo observado no rato hiperexcitação desde as doses pequenas como 10mg/Kg. Além disso, para este isômero foram causadas convulsões a partir da dose de 30mg/Kg e a dose letal foi de 7mg/Kg.

Figura 2.2 – Isômeros da codeína

No que diz respeito à atividade antitussígena da codeína administrada endovenosa (artéria femural) de ratos anestesiados e com estímulos diretos na traquéia, os resultados demonstraram que a *l*-codeína 0,15 mg/Kg inibiu o reflexo de tosse de maneira significativa desde a dose de 0,3 mg/Kg, enquanto a *d*-codeína também inibiu a tosse, mas apenas em doses acima de 2mg/Kg, o que comprovou que o *l*-isômero é aproximadamente 6 vezes mais potente que o *d*-isômero na inibição do reflexo de tosse e sugeriu que a atividade antitussígena não é dependente de estereoespecificidade. Além disso, os autores concluíram que este efeito antitussígeno seria mediado por receptores diferentes (não opióide-específicos), uma vez que não foram sensíveis à reversão por naloxona (um antagonista padrão opióide e não específico) (Thuy; Louis, 1980).

Para Chau e Dewey (1976) os *d*-isômeros de um grande número de analgésicos opióides não agiram em receptores específicos sendo mais potentes do que os *l*-isômeros na ação de antagonizar o sistema colinérgicos. Este aspecto de atividade em sistemas diferentes constitui umas das investigações para os efeitos adjuvantes em anestesia.

Na análise das ações da codeína isolada (5-30mg/Kg) em SNC ou SNP e na inexistência de qualquer injúria em nervo ciático de rato, Erichsen et al. (2005)

comprovaram que este opióide desempenha um efeito antinociceptivo moderado no teste de retirada da cauda e de magnitude semelhante que o promovido pela morfina e metadona. No entanto, a porcentagem de ativação da antinocicepção da codeína foi 2.5 vezes menos potente no SNC que SNP.

Em contrapartida, ainda no que se refere às ações da codeína isolada no SNP, após injúria em nervo ciático, à administração de (30mg\Kg) demonstrou um pequeno efeito antinociceptivo (30 min) após estimulação tátil de tronco de ratos com ponta de lápis quando comparada morfina (6mg\Kg) por 180 minutos de observação. Além disso, a codeína falhou para o controle da hiperalgesia mecânica quando comparada a metadona e morfina que tiveram resultados significativos em altas dosagens. Já no que se refere à atenuação dos efeitos da alodinia no tronco após estimulação com spray frio de cloreto de etila tanto a metadona, a morfina quanto codeína desempenharam uma ação fraca, porém significativa (Erichsen et al., 2005).

Quanto a potencia analgésica promovida tanto pela codeína quanto pelo tramadol, demonstrou-se clinicamente que os efeitos analgésicos locais (periféricos) não podem ser revertidos pela naloxona sugerindo que estes efeitos são mais comumente mediados por mecanismos dependentes de receptores não-opioides através de canais iônicos (Power et al., 1991; Tsai et al., 2001).

Mitchell et al., (2010), demonstraram em ratos que a combinação de codeína, ibuprofeno e paracetamol, na proporção 1:20:25 age sinergicamente para aumentar a atividade anti-hipernociceptiva sem aumentar os efeitos indesejáveis da codeína no sistema motor. Esta possibilidade de obter o máximo de antinocicepção com doses mínimas ativas das drogas tem uma atração terapêutica considerável, sendo o sinergismo é particularmente valioso se há aumento da eficácia sem aumento dos efeitos indesejáveis.

O cloridrato de tramadol (hidrocloreto de dimetilamino metoxifenilcicloxanol) é uma droga sintética de ação analgésica central relatado como efetivo para vários tipos de dores pós-operatórias, incluindo a dor odontológica (Mehlish et al., 1993).

É também considerado o sintético da 4-fenilpiperidina e análogo à codeína. Age como um analgésico através da afinidade por receptores μ -opióides, por agonistas alfa 2-adrenoreceptores, efeitos serotoninérgicos e pela inibição da recaptação de noradrenalina e 5-hidroxitriptamina (serotonina) (Wiles; Nathanson, 2010).

Tem seu mecanismo de ação relacionado aos opióides codeína e a morfina, sendo considerado um duplo mecanismo que envolve uma afinidade fraca aos receptores opióides μ e também uma inibição da recaptação de serotonina e da noradrenalina na sinapse das vias descendentes inibitórias da dor (Scott; Perry, 2000).

É clinicamente efetivo no tratamento da dor classificada como moderada a severa e apresenta baixo potencial de adicção. No uso de terapia aguda, o tramadol promove analgesia para múltiplas condições dolorosas incluindo a dor pós-operatória, de obstetrícia, câncer terminal e de origem coronariana (Scott; Perry, 2000; Pozos et al., 2007).

É um analgésico geralmente bem tolerado sendo os eventos adversos mais comuns a náusea e o vômito. Em contraste com outros opióides como a morfina e a meperidina que mostram efeitos adversos clinicamente relevantes, como depressão respiratória, ele pode ser administrado em doses equípotentes e, conseqüentemente, pode ser recomendado como analgésico pós-operatório de procedimentos mais invasivos, em vez de morfina. É também associada à baixa incidência de depressão cardíaca, tontura e sonolência quando comparado à morfina. Seu potencial de dependência é desprezível e sua combinação a anti-inflamatórios não-esteroidais permite que a dose do opióide seja reduzida, o que resulta em uma maior segurança e uma menor incidência de efeitos adversos (Lehmann, 1997).

Quando foi descoberto na década de 70, pensava-se que o tramadol agia exclusivamente sobre os receptores opióides, porém estudos complementares descrevem que essa droga inibe a recaptura da serotonina e a noradrenalina (Radbruch et al., 1996). Há indícios também que possa modificar a transmissão dos impulsos de dor inibindo a recaptação de monoamina (Raffa et al., 1993).

Vickers e Paravicini (1995), comparando o tramadol com a morfina após cirurgias abdominais, relataram que o primeiro deprime a taxa de respiração transitoriamente, no entanto, não teve efeito sobre a tensão final de dióxido de carbono expirado. Já a morfina causou apnéia e/ou depressão considerável da ventilação. Os autores sugerem que outros mecanismos que não a atividade dos receptores de opióides desempenham um papel significativo na analgesia produzida pelo tramadol.

Este opióide tem sido estudado como um adjuvante ao AL na expectativa de que possa ter efeitos similares aos agonistas alfa-2-adrenoreceptor como a clonidina, sem os efeitos indesejáveis associados a estes. No entanto, os resultados têm sido variáveis, uma vez que quando usado como adjuvante a mepivacaína em bloqueios do plexo braquial prolongou o bloqueio sensitivo e motor e diminuiu a necessidade de analgésicos pós-operatórios (Kapral et al., 1999). Já na adição a bupivacaína para o bloqueio do músculo psoas não teve relação com alterações na duração do tempo de anestesia ou decréscimo na necessidade de analgésico pós-operatório (Mannion et al., 2005).

O Tramadol, assim como a codeína é um exemplo de opióide composto por mistura racêmica [(+) tramadol e o (-) tramadol que causa ativação de dois sistemas opióides (receptores específicos e não-específicos) e o sistema não-opiíde (monoaminérgico) estando ambos envolvidos na inibição da dor (Vickers et al., 1992; Sacerdote et al., 1997).

Esta disponível no mercado também como uma mistura racêmica de (+) tramadol e (-) *tramadol*, sendo as principais vias de biotransformação a O-desmetilação e N-desmetilização que ocorre no fígado, produzindo os isômeros trans-O-desmetiltramadol (M1) e trans-N-desmetiltramadol (M2) respectivamente. Desta forma, observa-se que os dois centros quirais podem gerar 4 isômeros. Embora tanto o (+) *tramadol* quanto o (-) *tramadol* contribuam para atividade analgésica, apenas (+) *tramadol* e (+) M1 são agonistas μ -opiídes, sendo o primeiro também inibidor da recaptação de serotonina. Já o (-) *tramadol* age nos centros monoaminérgicos inibindo a recaptação de norepinefrina (Godoy et al., 2010).

Figura 2.3 – Estrutura química do tramadol e seus metabólitos M1 (O-desmetilação), M2 (N-desmetilação), M3 (N,N didesmetiltramadol), M4 (O,N,N-trimetiltramadol) e M5 (O,N-didesmetiltramadol)

Acredita-se que o metabólito (M2) desempenhe pequena afinidade por receptores opióides tenha e um efeito de ligação nas GTPγS (Gillen et al., 2000).

O (+) tramadol age com afinidade moderada em receptores μ e na inibição da recaptação da serotonina. Já o (-) tramadol, age inibindo a recaptação da norepinefrina (Bamigbade et al., 1997; Garrido et al., 2000).

Figura 2.4 - Mistura racêmica de (+) tramadol (esquerda) e (-) *tramadol* (direita)

Quanto as suas características farmacológicas envolvem vias de metabolização por O-desmetilação e N-desmetilação que ocorre nos microsossomos do fígado (citocromo P-450, isoenzimas 2D6, 2B6, e 3A4) e absorção no intestino delgado, atingindo sua concentração plasmática máxima (C_{max}) a 0,6 h após sua administração oral em ratos. A meia-vida de eliminação é 1.7-1.9 h para o *trans*-T e 2.5-3.8h para o isômero M1 (Mehvar et al., 2007).

Tratando-se das suas atividades periféricas, já foi postulado que este tem efeitos anestésicos locais semelhantes à lidocaína e à prilocaína quando injetado intradermicamente (Pang et al., 1999; Altunkaya et al., 2003).

Para Tsai et al., (2001), o tramadol pode agir na membrana por mecanismos inespecíficos que também são gerados por uma variedade de componentes químicos como álcool, barbitúricos, anticonvulsivantes e narcóticos. Ainda, através de aplicação direta do tramadol em nervo ciático de ratos, demonstraram que o bloqueio da condução nervosa, efeito anestésico local, não pode ser revertido pela naloxona, sugerindo que outros mecanismos além da ativação opióide estão envolvidos.

Quando comparado o bloqueio da condução nervosa ocasionado pelo tramadol e pelo AL lidocaína, Mert et al. (2002) concluíram que o tramadol tem atividade anestésica local similar, porém um pouco mais fraca que a lidocaína, provavelmente relacionada aos mecanismos de ação diferentes.

No que se refere aos efeitos adjuvantes do tramadol, Pozos et al., (2006), observaram que (50mg) injetado no sítio cirúrgico após anestesia com articaína 4% + epinefrina 1:100.000 (1,5 tubetes - 2,7ml) comprovou que este opióide pode ser usado como adjuvante no controle da dor à medida que aumenta a qualidade e a duração da anestesia transoperatória. Além disso, se avaliou a possibilidade de redistribuição do tramadol do sítio cirúrgico para o sistema sanguíneo, onde constatou que no plasma foi indetectável, o que sugere que seus efeitos anestésicos adjuvantes são mediados no local por mecanismos farmacodinâmicos. Dessa forma, injeção *in situ* do opióide prolongou significativamente a duração do efeito anestésico e estendeu o efeito pós-operatório sem dor, exigindo menos analgésico, concluindo-se que este fármaco poderia ser uma boa alternativa no controle da dor por aumentar a qualidade da anestesia e analgesia pós-operatória.

Ainda no que diz respeito aos efeitos adjuvantes, Pozos et al. (2007), realizaram em cirurgia de terceiros molares a administração de 4 grupos de fármacos: (A) tramadol 50mg intramuscular 1 hora antes da cirurgia; (B) tramadol 50mg no sítio cirúrgico, injetado submucoso imediatamente após a anestesia; (C) tramadol intramuscular 50mg e submucoso 50mg e (D) placebo, tendo concluído que a duração dos efeitos anestésicos foram significativamente maiores nos grupos que receberam tramadol no sítio cirúrgico (B e C), que os grupo de intramuscular ou placebo. Já quando comparado os valores de intensidade de dor, também não houve diferença estatística ($p < 0.05$) entre os grupos de administração intramuscular ou *in situ* (A e B), em contrapartida na constatação de alívio de dor através da EAV (escala analógica visual) o grupo C demonstrou após 24 horas 66% alívio, comparado a 25% A, 33% B e 16% D.

Na tentativa de identificação destes efeitos adjuvantes, constatou-se que diferente de outros opióides, o efeito analgésico do tramadol é apenas parcialmente inibido pela naloxona, fato que sugere atividades complementares e sinérgicas do sistema opióide e monoaminérgico, sendo mecanismos que aumentam a eficácia analgésica e o perfil de tolerância desta mistura (Raffa et al, 1993).

2.2 MECANISMO DE AÇÃO DOS OPIÓIDES

Os opióides endógenos e as drogas opióides produzem muitos efeitos no sistema neuronal através de uma interação no amplo sistema de receptores da membrana celular nervosa. Estes receptores opióides seletivos μ , δ e κ mostram uma distribuição única no cérebro e sua ativação produz um número de efeitos tanto nos sítios pré ou pós sinápticos. São alguns dos principais efeitos ocasionados por essa ligação a hiperpolarização celular por ativação da condutibilidade de K^+ e a capacidade de inibir a neurotransmissão tanto no SNC quanto no SNP através de três mecanismos: estimulação de receptor opióide pré-sináptico com aumento da condutibilidade de K^+ e diminuição dos movimentos de potenciais de ação; bloqueio de receptores de Ca^{2+} e do seu influxo e ativação de receptores opióide-específicos com interferência no maquinário celular e suas vesículas de exocitose (North, 1993).

Dessa forma estes mecanismos de ação descritos confirmam que o bloqueio da condução neuronal pode ser o resultado de mecanismos mediados por receptores não específicos (ação na membrana celular) ou opióide-específicos (receptores opióides) (Jaffe; Rowe, 1996).

Já ficou comprovado *in vitro* que opióides como a diamorfina, meperidina, fentanil e sufentanil, além da analgesia central tem efeitos anestésicos locais, o que demonstra a complexidade de ação destes fármacos. (Jaffe; Rowe, 1996).

Entre as possibilidades mais sugeridas para este efeito antinociceptivo periférico esta a ação por receptores opióides não-específicos. Esta se baseia na hipótese de estimulação de receptores pré-sinápticos que induz a ativação da condutibilidade de K^+ , entretanto, ao mesmo tempo, interrompe o movimento dos potenciais de ação no terminal pré-sinápticos (North, 1993). Além disso, haveria o possível bloqueio da entrada de Ca^{2+} através da inibição de seus canais (Keneddy; Henderson, 1991).

Estes canais de Ca^{2+} voltagem-dependente são as vias pelas quais o Ca^{2+} normalmente entra no terminal nervoso dando um gatilho para a

neurotransmissão. Então, bloquear esta via de influxo representa um mecanismo potente de controle da neurotransmissão. Além disso, comprovou-se que a ativação de receptores opióides poderia inibir vários tipos de canais de Ca^{2+} (tipo N, P e Q), mas não inibiria o tipo L, demonstrado em células do Núcleo do Trato Solitário (NTS) de ratos (Rhim; Miller, 1994).

Assim como a condutibilidade de K^+ também poderia ser alterada indiretamente por uma ação de opióides em seus receptores pré-sinápticos, o bloqueio do canal Ca^{2+} teria a dependência de um receptor opióide acoplado, cuja ação conjunta dependeria de uma proteína G conforme foi demonstrado em células do NTS de ratos. Além disso, provavelmente esta inibição de Ca^{2+} mediada por receptor poderia ser um mecanismo pelo qual o opióide produziria uma inibição pré-sináptica de neurotransmissão tanto no SNC quanto no SNP, afinal já está comprovado que os neurônios do SNC também possuem um grande número de diferentes canais de Ca^{2+} . (Rhim; Miller, 1994).

Já no que se refere à ativação de receptores opióide-específicos estes poderiam gerar efeitos diretos no maquinário intracelular que regularia a transmissão dentro da célula principalmente através das vesículas por exocitose (Copogna et al., 1993).

Ainda quanto à atividade específica Narita et al. (2001) sugerem que o efeito de agonistas μ -opióides em seus receptores seria concentrado na região cerebral do sistema dopaminérgico mesolímbico. O que está de acordo com os achados de Nakamura et al., (2008), que após injeção subcutânea de tramadol ou M1 confirmaram aumento dos níveis de dopamina cerebral, sugerindo que a ativação destes receptores μ -opióides poderia facilitar o funcionamento do sistema dopaminérgico mesolímbico aumentando o nível de dopamina extracelular.

Considerando-se o duplo mecanismo de ação desses opióides, Helle et al. (2005) suportam a hipótese da ação específica e não específica de alguns opióides na medida em que analisaram a ação em modelos de dor central (medula) e periférica (nervo ciático) após administração sistêmica dos opióides metadona, morfina e codeína. Os autores concluíram que para uma inibição da nocicepção térmica e mecânica, todos opióides foram mais efetivos na injúria

espinal que ciática. Em contrapartida, o achado mais notável foi a grande potência da codeína na injúria central quando comparada a sua ação periférica e, principalmente aos demais opióides. Este fato suporta a hipótese que embora a morfina seja também um metabólito ativo da codeína, a ação antiallogênica pronunciada da codeína (considerando-se a sua baixa afinidade por receptores específicos comparada a morfina isolada) sugere que a codeína deva agir por outros mecanismos de ação antiallogênicos em injúrias espinais (SNC).

Para Kotaro et al. (2008), essa atividade de ação periférica de alguns opióides (independente ou com baixa ativação de receptor opióide específico) poderia estar relacionada à estrutura de suas moléculas. Através da análise dos efeitos dos opióides (morfina, codeína, etilmorfina e dihidrocodeína) e da cocaína no potencial de ação de nervo ciático de ratos por método *air-gap*, concluíram que todos os opióides reduziram a amplitude dos potenciais de ação de maneira reversível, resistente ao antagonista opióide não específico naloxona, dose-dependente e menos eficazes que a cocaína, na sequência de redução de potencial de ação etilmorfina>codeína>dihidrocodeína≥morfina. Além disso, sugeriram que a substituição de grupos –OH unidos ao anel benzênico da morfina, codeína, etilmorfina, tramadol e dimetiltramadol tornariam suas estruturas bem diferentes que os demais opióides conhecidos, o que poderia ser um importante fator no bloqueio da condução nervosa.

Há muitas controvérsias em relação às ações periféricas dos opióides. Enquanto Kotaro et al. (2008) relatam o conhecimento dos opióides pelo seu efeito anestésico no sistema nervoso periférico (SNP) e o bloqueio da condução do potencial de ação nestes nervos, Yege et al. (1985), através da aplicação perineural de morfina em rato decerebrados comprovaram não existir interferência significativa na amplitude do potencial de ação da superfície radial do nervo ciático.

Estudos animais suportam a hipótese de efeitos periféricos de analgesia opióide e alguns ensaios clínicos têm demonstrado o mesmo efeito. Recentemente, foi demonstrado efeito anestésico de tramadol 5% injetado intradermicamente em humanos por Altunkaya et al. (2003), com efeito similar a prilocaína 2%. Já em nervos periféricos, Mert et al. (2002), observaram que o

tramadol apresenta também ação anestésica local relacionada aos canais de cálcio (sem especificar o tipo) e receptores μ .

As considerações aos opióides de ocasionarem possíveis efeitos anestésicos semelhantes aos anestésicos locais seguiram os achados em substâncias como a ketamina e a meperidina. Foi postulado que a meperidina tem uma atividade semelhante ao efeito anestésico local por sua capacidade de bloqueio de canais de Na^+ , embora sua afinidade aos nervos periféricos seja menor que a lidocaína; Entretanto, a meperidina também pode inibir diferentes canais de K^+ em nervos periféricos (Brau et al., 2000).

Sabe-se que os opióides poderiam interferir na atividade dos canais de K^+ , todavia, ao mesmo tempo em que Brau et al. (2000) observaram que canais de K^+ de nervos periféricos poderiam ser inibidos pelo opióide meperidina, North (1993) já havia associado aos analgésicos opióides um aumento da condutibilidade de K^+ e redução do influxo de Ca^{2+} que levaria a hiperpolarização celular exercendo um efeito inibitório da neurotransmissão central e periférica.

Vários estudos têm também demonstrado que os receptores opióides podem ainda ativar a fosfolipase C/ proteína C Kinase (Smart et al., 1995) em diferentes eventos modulados por drogas opióides com regulação da dor e da resposta excitatória neural (Narita et al., 2008).

Ainda no que se refere a ação inespecífica de alguns analgésicos opioides, Hashimoto et al. (2008), concluíram que os analgésicos opióides podem promover a inibição de neurônios talâmicos através do bloqueio de canais de Na^+ sem a ativação dos receptores μ . No entanto, os dados sugeriram que três agonistas (morfina, fentanil e oxicodona) de receptores μ exibiram ações diferentes nos canais de Na^+ através de mecanismos de ação também diferentes dos AL.

Referindo-se a ação sistêmica e local dos opióides, Pozos et al. (2007), demonstraram em pesquisa clínica que tanto a aplicação local (*in situ*) como a sistêmica intramuscular do tramadol aumentou a duração anestésica e diminuiu os valores de dor significativamente. No entanto, as formas de administração do opióide não apresentaram relevância estatística entre si.

A expressão destes receptores opióides poderia ser afetada por condições inflamatórias locais, em que o transporte axonal de receptores opióides da raiz do gânglio dorsal para os terminais nervosos periféricos resultaria num aumento da expressão destes receptores no tecido inflamado (Hassan et al., 1993).

Considerando-se as particularidades dos tecidos orais, a constatação da presença de receptores μ na polpa de dentes humanos sugere uma possível relação funcional entre os receptores opióides nos tecidos orais e a analgesia periférica causada pelos mesmos. Além de sua possível ação antinociceptiva através dos outros mecanismos de ação já elucidados (canais de membrana celular e sistema colinérgico) (Jaber et al., 1993).

Para constatar a expressão destes receptores opióides nos tecidos orais, Dionne et al., (2001) demonstraram que a administração de pequenas doses de morfina dentro do espaço periodontal de um dente com hiperalgesia produziu um alívio significativo da dor espontânea, sendo o efeito analgésico opióide localmente mediado.

No entanto, tanto o tramadol como a codeína são considerados os opióides com baixa afinidade aos receptores μ . Assim como o tramadol, a codeína tem um grupo metil substituído na cadeia fenólica (estereoespecificidade), o que explica sua baixa afinidade por receptores opióides e ação em receptores não específicos (Kapral et al., 1999).

Comparando-se o tramadol e a codeína, este é conhecido como uma agonista opióide com seletividade para os receptores μ -opióides e é um análogo sintético da codeína (4-fenil-piperidina). Essa afinidade por receptor específico é aproximadamente dez vezes menor que a codeína e 6000 vezes menor que a da morfina (Raffa et al., 1993).

Embora se discuta que diferente do tramadol, a codeína não possua uma via indireta de regulação monaminérgica (Tsai et al., 2001), este opióide também tem sua ação concentrada em outros mecanismos indiretos não dependentes de receptores opióides, o que poderia ser um alvo de investigações na associação a outros fármacos.

Enfim, esta revisão da literatura sugere que a associação de opióide a AL poderia ser fator da potencialização da anestesia e analgesia. No entanto, em virtude da inexistência de relatos de análise sensitiva, motora e proprioceptiva em nervos mistos, da complexidade de ação destes fármacos e da diversidade de compostos e doses disponíveis no mercado, maiores investigações se fazem necessárias.

3 PROPOSIÇÃO

Estudar a influência do analgésico opióide codeína, associado ou não ao anestésico local, na duração do bloqueio nervoso ciático de rato pela análise funcional do bloqueio sensitivo, propioceptivo e motor.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Animais

Foram utilizados 80 ratos Wistar, pesando entre 320 ± 50 g, aproximadamente 12 semanas, aclimatados no Biotério do Laboratório de Biologia Oral da Faculdade de Odontologia USP. Todos animais receberam alimentação e água *ad libitum* e foram acondicionados sob temperatura constante de 20°-25° C, claro/escuro de 12/12 e ventilação controlada artificialmente.

Os animais foram submetidos a um período de ambientação de no mínimo 2 semanas sendo os experimentos sempre realizados no período da manhã, entre as 8h e 14hrs.

O estudo seguiu os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), com as normas do Conselho de cuidados com animais (1993) e do Congresso Nacional Brasileiro e foi aprovado pelo Comitê de Ética do ICB em sua subcomissão para animais segundo o protocolo 057 nas fls 87 do livro 02 (ANEXO A).

4.1.2 Critérios de inclusão

Foram incluídos:

1. Ratos machos saudáveis, adultos com peso entre 320 ± 50 gramas e aproximadamente 12 semanas;

2. Animais nascidos no Biotério Central da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo;
3. Ratos que durante os experimentos necessitem volume de fármacos dentro do prévio estabelecido;

4.1.3 Material de consumo e permanente

4.1.3.1 Material de consumo - biossegurança

Avental descartável, luvas de látex para procedimento, óculos de proteção, plástico e papel absorvente, campo cirúrgico para forramento da bancada, gaze esteril, seringas hipodérmicas descartáveis (0,3ml; 0,5ml e 1,0ml), agulhas hipodérmicas descartáveis, caneta retroprojetora para identificação dos animais e cronômetro.

Figura 4.1 -Montagem de bancada para trabalho composta por: gaze, caneta para identificação dos animais, luvas de látex, cronômetro, seringas hipodérmicas descartáveis, pinça mosquito, ampolas de fármacos (AL, codeína e tramadol)

4.1.3.2 Análise funcional e descrição dos fármacos

Os animais foram avaliados funcionalmente após o recebimento de uma das soluções injetáveis abaixo descritas ou combinação das mesmas, através do uso de seringas hipodérmicas de insulina BD ultra-fine de 1ml com 8mm de comprimento (5\16”) e calibre 30 G (0,3mm).

ANESTÉSICO LOCAL:

- Solução anestésica de lidocaína 2% com Vasoconstritor epinefrina 1:100.000 (Alphacaine 100® DFL) em tubetes de 1,8 ml para seringa carpule, sendo 0,4 ml o volume administrado por procedimento. Este volume foi estabelecido conforme a dose máxima permitida para este anestésico, 7mg/kg e a análise da obtenção do bloqueio no trabalho piloto.
- Solução de lidocaína 2% sem vasoconstritor (Lidostesim® Dentsply) também administrada no volume de 0,4 ml (conforme cálculo de dose máxima permitida 4,4mg/kg e a análise do trabalho piloto).

Composição	Quantidade
Cloridrato de lidocaína	20 mg
Epinefrina base (opcional)	10µg
Veículo estéril qsp (Bissulfito de sódio, cloreto de sódio)	1 ml

Quadro 4.1 - Cada 1ml de lidocaína contém:

FOSFATO DE CODEÍNA

- CODEIN[®] (Cristália): 30mg/ml, 2ml/ampola. Dose recomendada de codeína injetável é de 0,5 mg/kg, então cada rato (~320g) receberá 1,5 mg ou 0,05 ml fosfato de codeína + 0,10 ml de soro fisiológico = solução de 0,15ml.

CLORIDRATO DE TRAMADOL

- TRAMAL[®] (Pfizer): 50mg/ml, 1ml/ampola. Dose recomendada de cloridrato de tramadol injetável é de 20 mg/kg, então cada rato (~320g) receberá 6mg ou 0,12 ml tramadol + 0,03 ml de soro fisiológico = solução de 0,15ml.

Figura 4.2 - Demonstração dos fármacos vendidos comercialmente, de cima para baixo, AL lidocaína, cloridrato de tramadol e fosfato de codeína

4.1.3.3 Composição dos opióides

Composição fosfato codeína	Quantidade
Fosfato de codeína	30 mg
Veículo estéril qsp (Acetato de sódio, ácido acético, clorobutanol, edetato de sódio, metabissulfito de sódio, água para injetáveis)	1 ml
Composição cloridrato de tramadol	Quantidade
Cloridrato de tramadol	50 mg
Veículo estéril (acetato triidratado de sódio e água para injetáveis)	1 ml

Quadro 4.2 - Composição da codeína e tramadol (por ampola 1ml)

A análise minuciosa da composição das ampolas de cloridrato de tramadol e do fosfato de codeína foi necessária para o estabelecimento das diluições. O soro fisiológico foi escolhido para a diluição, uma vez que poderia ser usado com ambos opióides sem afetar suas composições.

4.1.3.4 Divisão dos grupos

Os animais foram divididos em 8 grupos:

GRUPO	COMPOSIÇÃO
1.COD	Codeína (total 0,15ml)
2.TRAM	Tramadol (0,15ml).
3.AL	AL c/ VC (0,4ml)
4. AL SV	AL sem vasoconstritor (0,4ml)
5.AL + TRAM	AL (0,4ml) + tramadol (0,15ml)
6.AL + COD	AL (0.4 ml) + codeína 0,15 ml
7.COD 20' + AL	Codeína 0,15 ml + AL (0.4 ml), 20 min do opióide.
8.TRAM 20' + AL	Tramadol 0,15 ml + AL (0.4 ml), 20 min após o opióide.

Quadro 4.3 – Divisão dos grupos

Segundo o fabricante da codeína (Cristália), 20 min é tempo necessário para a diminuição máxima na amplitude do potencial de ação em nervo periférico. Para padronização, o mesmo tempo foi utilizado para o tramadol.

4.1.4 Material permanente

4.1.4.1 Avaliação do bloqueio sensitivo

A avaliação do bloqueio sensitivo foi realizada através de 2 testes de reflexo de retirada da pata (RRP): (1) por estímulo nociceptivo-pressórico

utilizando analgesímetro com força linear crescente (16g/s) até 250 g (*cut-off*) na pata do animal (método de Randall e Sellito). (2) por pinçamento (pressão) com RRP avaliado por escores (1-3), onde as reações em: 1=normal; 2=fraca (bloqueio parcial); 3=nenhuma (bloqueio completo). Tempos: T -10 min antes do bloqueio e a cada 10 min até o retorno.

Figura 4.3 - Analgesímetro fotoelétrico (Ugo-Basile: Biological Research Apparatus, Itália).

Figura 4.4 - Pinça mosquito curva

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Avaliação funcional do bloqueio nervoso periférico

Figura 4.5 - Descrição de metodologia para avaliação do nervo ciático seguindo a ordem de execução dos testes: esquerda para direita e cima para baixo.

4.2.1.1 Técnica do bloqueio do nervo ciático

As drogas serão administradas unilateralmente na região periarticular do membro posterior, no espaço poplíteo (região que abrange um dos acessos ao trajeto do nervo ciático e dos vasos responsáveis pela inervação e irrigação sanguínea da pata traseira do animal), sendo que a pata contralateral servirá como controle. Este procedimento seguirá a técnica de Truant (1958).

Os bloqueios foram realizados sempre pelo mesmo operador treinado e calibrado após atividades em um trabalho piloto e as avaliações foram realizadas sempre na mesma ordem: (1) avaliação nociceptiva (Teste de pressão constante na pata e reflexo de retirada); (2) avaliação motora (claudicação e reflexo extensor) e (3) avaliação da propriocepção através da resposta ao salto e localização tátil. Esta ordem foi escolhida uma vez que no trabalho piloto foi

comprovado que ela minimiza os efeitos de cada procedimento avaliativo nos resultados subseqüentes.

4.2.1.2 Avaliação de nocicepção

Teste de pressão constante na pata (Analgesímetro)

Na avaliação da hiperalgesia mecânica será utilizado o teste de pressão na pata do rato (Analgesímetro eletrônico UGO-BASILE Italy), que será realizado seguindo o método descrito por Randall-Selitto (1957). O teste consiste em aplicar no dorso de uma das patas dorsais do rato uma força em gramas (g) e de magnitude crescente (16g/s) continuamente, sendo interrompido na presença de reação de retirada do membro pelo animal. O analgesímetro apresenta um cone de ponta romba que será colocado sobre a lateral da pata dorsal do animal, onde é innervado pelo ciático.

Neste modelo o limiar de dor será representado como a força (g) necessária para indução da reação de retirada do membro. Considerando-se que a dor será induzida pelo estímulo pressórico, o reflexo de retirada da pata (RRP) representará seu limiar de dor, sendo um indicativo do grau de tolerância do animal ao estímulo nódico anterior a lesão tecidual (Randall-Selitto, 1957).

O membro posterior contralateral servirá como controle e os valores da RRP antes do bloqueio anestésico serão considerados basais. O estímulo pressórico será realizado minutos antes da instalação do bloqueio anestésico (latência) e a cada 10 minutos até o retorno da sensação dolorosa ao estímulo.

Considerando-se que no rato pelas características de innervação da sua pata o animal poderá ter reflexo de retirada da pata mesmo com a innervação do ciático, uma vez que poderá usar o músculo flexor do quadril innervado pela innervação femural. Para se certificar que a ausência da retirada da pata será um bloqueio sensorial e não motor, o estímulo pressórico será na porção medial da

pata (inervada pelo n.safeno), já que o estímulo doloroso é considerado ausente se o animal consegue retirar sua pata depois da aplicação do estímulo do lado medial da pata (nervo safeno), mas não do lado lateral inervado pelo ciático (Popitz Berges et al., 1995).

Figura 4.6 - Animais em teste de Reflexo de Retirada da Pata (RRP) com Analgesímetro Ugo-Basile

Teste do reflexo de retirada (pinça mosquito)

O reflexo de retirada (RR) do membro traseiro envolve a contração dos músculos flexores do quadril, joelhos e tornozelos. É um reflexo mantido por uma polisinapse nervosa e pode ser induzido pela estimulação do membro, sendo sua latência, amplitude e duração dependente da intensidade deste estímulo. Este reflexo poderá ser induzido pelo estímulo nocivo na pele (térmico ou mecânico) ou mecânico em tecidos profundos por intensidades e repetições que não resultem em analgesia (Thalhamer et al., 1995).

O estímulo mecânico profundo consiste em aplicar uma pressão através das pregas de pele da lateral do metatarso (dor cutânea) ou através da falange distal do primeiro e quinto dedos. Para a calibração será usada uma pinça mosquito com diâmetro de 2 mm com a qual será feita a pressão. O grau de resposta será avaliado segundo os parâmetros: reflexo presente ou ausente, sendo (1) – normal, (2) – reflexo com alteração e (3) – reflexo ausente. Este teste

foi usado como complementar ao teste de pressão constante na pata com o analgesímetro.

Figura 4.7 - Teste de nocicepção (reflexo de retirada da pata)

4.2.1.3 Avaliação da função motora

A avaliação motora foi realizada através da observação da atividade de locomoção espontânea e confirmação com o reflexo extensor postural.

A atividade de locomoção espontânea envolve a observação da anormalidade ao andar e a dificuldade de guiar-se sozinho (claudicação), além disto na perna anestesiada será observada a postura de descanso comparada a que o animal andava antes da administração do AL. Para isso será observado se a pata anestesiada fica ou não com o plantar invertido (descanso anormal). Para a dificuldade no andar será usada a escala numérica: (1) andar normal, (2) movimentação parcial, (3) dificuldade de se guiar sozinho e claudicando, sendo a claudicação considerada apenas no score 3.

Figura 4.8 – Ausência de reflexo motor (claudicação)

A função motora também foi confirmada através do reflexo extensor, um teste de reações posturais em pequenos animais, normalmente realizado sobre uma plataforma, sendo também adequado para avaliação motora. Neste parâmetro será observado o momento de erguimento das patas do animal. Considerando-se que com o bloqueio anestésico motor a ausência completa do reflexo extensor, quando o animal ergue suas patas sem qualquer sustentação a articulação tibiotarsal de suas patas traseiras estendem-se para a manutenção da postura (Thalhammer et al., 1995). Portanto, o grau de resposta deste reflexo extensor foi avaliado pela ausência ou presença do bloqueio, sendo complementar ao teste de claudicação.

4.2.1.4 Avaliação da propriocepção através da resposta ao salto e localização tátil

Os testes escolhidos para a análise de propriocepção são de uso em neurologia veterinária. O grau de déficit funcional será avaliado segundo os parâmetros: (0) normal; (1) pouco alterado; (2) alteração severa, (3) função ausente.

No teste de localização de tátil o rato será mantido em postura normal e descansada, porém com o plantar dos dedos flexionados e com seu dorso

colocado sobre a mesa. Considerando-se a propriocepção intacta, o animal tende a imediatamente reposicionar seus dedos do pé. No entanto, se a propriocepção estiver prejudicada esta correção postural imediata estará ausente.

No teste de salto o rato ficará suspenso pela sua parte superior do corpo estando seu peso descansado sobre o membro a ser testado. Considerando-se que seu corpo será movido lateralmente a resposta esperada seria que o animal pulasse na direção do movimento para evitar sua queda. Todavia, com o bloqueio de propriocepção, este reflexo ficará ausente e a tendência é que o rato arraste suas pernas sobre a mesa.

4.2.2 Estudos estatísticos

Todos os testes foram executados com auxílio do programa BioEstat 5.0 e os gráficos e tabelas elaborados no Microsoft Excel versão Office XP.

As medidas de duração do tempo do bloqueio nervoso para cada estímulo aplicado (sensitivo, motor e proprioceptivo) foram comparadas através de suas médias de duração, e aplicado o teste de Análise de Variância (ANOVA) com teste auxiliar Tukey, pois para todos os grupos, a distribuição dos dados foi normal e homogênea sendo o nível de significância adotado de 1% ($p < 0.01$).

Já para os scores obtidos por cada teste sensitivo, motor e proprioceptivo, isto é, dados não-paramétricos, foi realizado o teste de Kruskal-wallis, tendo como teste complementar Student-Newman-Kels sendo o nível de significância de 0.001% ($p < 0.0001$).

5 RESULTADOS

5.1 DADOS DEMOGRÁFICOS

Os dados demográficos dos animais estão dispostos na Tabela 5.1, sendo apresentadas as médias aritméticas e os desvios padrões.

Tabela 5.1 - Média aritmética de desvio padrão dos dados demográficos de 80 ratos

Dados demográficos	Média aritmética	Desvio padrão
Idade	~ 12 semanas (2 ninhadas)	0
Gênero	♂ (machos)	-----
Peso	320 g	± 50 g

5.2 DURAÇÃO DO BLOQUEIO SENSITIVO

Os valores absolutos (minutos) da duração do bloqueio sensitivo do nervo ciático utilizando cada fármaco estão dispostos na Tabela 5.2. Já os valores médios e erro padrão estão na tabela 5.3.

Tabela 5.2 – Valores absolutos (minutos) do tempo de duração para o bloqueio sensitivo

Ratos	Duração anestésica (bloqueio sensitivo)							
	COD	TRAM	AL	AL SV	AL + TRAM	AL + COD	COD 20' + AL	TRAM 20' + AL
1	25	25	60	25	130	185	120	135
2	50	20	60	25	115	165	170	130
3	45	30	70	30	180	185	120	170
4	40	45	60	20	180	150	120	155
5	45	25	60	30	150	180	130	170
6	35	15	75	25	170	160	175	110
7	25	15	65	25	165	150	125	115
8	35	15	65	25	160	175	105	125
9	25	15	65	25	175	160	135	125
10	35	0	75	25	180	175	150	115

Tabela 5.3 – Valores da média aritmética (minutos) $\pm$ EP de duração para bloqueio sensitivo

	Duração do bloqueio sensitivo em minutos							
	COD	TRAM	AL	AL SV	AL + TRAM	AL + COD	COD 20' + AL	TRAM 20' + AL
Duração Média	36.00	20.50	65.50	25.50	160.50	168.50	135.00	135.00
Desvio Padrão	9.07	11.89	5.99	2.84	22.54	13.34	22.97	22.36
Erro Padrão	2.87	3.76	1.89	0.90	7.13	4.22	7.27	7.08

Os valores das médias de duração do bloqueio sensitivo (minutos) e o erro padrão estão representados no histograma (Gráfico 5.1), onde se observou diferença estatística ($p < 0.01$) para os grupos: 1 e 3; 1 e 5; 1 e 6; 1 e 7; 1 e 8; 2 e 3; 2 e 5; 2 e 6; 2 e 7; 2 e 8; 3 e 4; 3 e 5; 3 e 6; 3 e 7; 3 e 8; 4 e 5; 4 e 6; 4 e 7; 4 e 8; 6 e 7; 6 e 8, conforme representação de significância no código do gráfico 5.1.

Gráfico 5.1 – Valores médios (minutos) $\pm$ EP da duração do bloqueio sensitivo

	2	3	4	5	6	7	8
1	ns	x	ns	x	X	x	x
2		x	ns	x	X	x	x
3			x	x	X	x	x
4				x	X	x	x
5					ns	ns	ns
6						x	x
7							ns
8							

Códigos do gráfico 5.1 ($x = p < 0.01$):

(1)COD=codeína; (2) TRAM= tramadol; (3) AL=anestésico local; (4) AL SV=Anestésico local sem vasoconstritor; (5) AL + TRAM= anestésico + tramadol; (6) AL + COD= anestésico + codeína; (7) Codeína 20'+AL= codeína injetada antes do AL; (8) TRAM20'+AL= tramadol injetado antes do AL

Quanto à análise do Reflexo de Retirada da Pata (RRP) após o estímulo nociceptivo com Analgesímetro, o bloqueio ao longo do tempo (gráfico 5.2) demonstra que para AL os valores obtidos apresentam valores paralelos entre t (10) e t (40), demonstrando diferença estatística ($p < 0.01$) quando comparada à associação AL ao opióide codeína (AL + COD), em que os valores mantêm-se

paralelos de t (10) até t (130) e também ao AL + TRAM, valores paralelos de t (10) até t (110). Nesta associação a codeína mostrou superioridade de extensão de bloqueio quando comparada ao tramadol ($p < 0.05$), no entanto não houve diferença estatística ($p > 0.01$). A mesma diferença estatística ($p < 0.01$) é encontrada quando se compara a injeção de AL a de opióides associados e intervalados (COD 20'+AL) e (TRAM 20' + AL), ambos mantêm valores paralelos de t(40) a t (90) e t(30) a t (100), respectivamente.

Gráfico 5.2 – Valores médios da intensidade (x10g) do Reflexo de Retirada da Pata (RRP) após estímulo nociceptivo avaliado ao longo do tempo (minutos)

Já no gráfico 5.3 também está representada a avaliação nociceptiva, neste caso através do Teste do Reflexo de Retirada com pinça mosquito em que o score 3 representou o bloqueio total do reflexo nociceptivo. Os resultados confirmam os dados do gráfico 5.2, sendo também possível observar valores paralelos representando o intervalo de bloqueio total entre t (10) e t (40) para AL,

para AL + COD entre t (10) e t (130) e AL + TRAM entre t (10) e t (110). Os grupos que receberam opióides prévio ao AL demonstraram menor intervalo de bloqueio total sendo de t(35) a t(100) para TRA20' + AL e de t (40) a t(95) para COD20' + AL.

Gráfico 5.3 – Valores médios da intensidade do Reflexo de Retirada com pinça mosquito (scores) após estímulo nociceptivo avaliado ao longo do tempo (minutos)

A análise descritiva dos grupos ao longo do tempo de ação (ANEXO B) demonstra que o grupo COD apresenta diferença estatística ($p < 0.0001$) de ação aos seus 20 min t (20) em relação ao tempo inicial. Em contrapartida, o AL demonstra a permanência de bloqueio sensitivo maior que este opióide isolado na medida que os tempos t(10) a t(40) diferem estatisticamente de t(0). Já quando observada a associação AL + COD, seu bloqueio é muito maior que o AL isolado demonstrando significância estatística de t(10) a t(130), e também, que AL + TRAM, significância entre t(10) a t (110).

Quanto à associação intervalada está foi menos efetiva, demonstrando significância estatística apenas entre t(40) a t(80) e t(20) a t(100) para COD 20' + AL e TRAM 20' + AL, respectivamente.

Ao comparar a duração média em minutos do bloqueio sensitivo total com o parcial (Gráfico 5.4), fica demonstrado que para os opióides isolados COD e TRAM, grande parte do bloqueio é do tipo parcial, diferente do que ocorre nas associações AL + COD, AL + TRAM, COD 20' + AL e TRAM 20' + AL, em que prevalece um bloqueio sensitivo total.

Gráfico 5.4 - Comparação dos valores médios de duração do bloqueio sensitivo total e parcial para os diferentes grupos: (1) COD=codeína; (2) TRAM= tramadol; (3) AL=anestésico local; (4) AL SV=Anestésico local sem vasoconstritor; (5) AL + TRAM= anestésico + tramadol; (6) AL + COD= anestésico + codeína; (7) Codeína 20'+AL= codeína injetada antes do AL; (8) TRAM20'+AL= tramadol injetado antes do AL

Total								Parcial							
	2	3	4	5	6	7	8		2	3	4	5	6	7	8
1	ns	x	ns	x	x	x	x	1	ns	ns	ns	Ns	ns	ns	x
2		x	ns	x	x	x	x	2		ns	ns	Ns	ns	ns	x
3			x	x	x	x	x	3			ns	ns	ns	ns	x
4				x	x	x	x	4				ns	ns	ns	x
5					ns	ns	ns	5					ns	ns	x
6						x	x	6						ns	x
7							x	7							x
8								8							

Códigos gráfico 5.4 ($x = p < 0.01$)

O percentual de bloqueio sensitivo completo está demonstrado no gráfico 5.5, em que para o grupo COD e TRAM, durante todo o tempo de bloqueio menos de 15% foi de bloqueio sensitivo completo. Já os grupos AL+COD e AL+TRAM, com 86,9% e 89,3%, respectivamente superam o grupo AL com 79,4% de bloqueio total.

Gráfico 5.5 – Valores percentuais (%) de duração do bloqueio sensitivo completo

5.3 DURAÇÃO DO BLOQUEIO MOTOR

Os valores de duração do bloqueio motor ciático utilizando cada fármaco estão dispostos na tabela 5.4. Já os valores médios e erro padrão estão na tabela 5.5.

Tabela 5.4 – Valores absolutos do tempo de duração (minutos) para o bloqueio motor

Ratos	Duração anestésica (bloqueio motor)							
	COD	TRAM	AL	AL SV	AL + TRAM	AL + COD	COD 20' + AL	TRAM 20' + AL
1	0	0	65	25	135	185	135	135
2	0	0	65	30	135	165	180	150
3	0	25	90	30	160	175	125	170
4	0	45	65	0	150	140	180	180
5	0	0	65	35	160	180	130	155
6	0	0	75	35	175	175	180	115
7	0	35	70	35	165	175	155	125
8	30	15	70	30	160	180	150	125
9	0	15	75	25	170	165	160	115
10	0	0	70	25	175	180	160	115

Tabela 5.5 – Valores da média aritmética (minutos) $\pm$ EP de duração bloqueio motor

	Duração do bloqueio motor em minutos							
	COD	TRAM	AL	AL SV	AL + TRAM	AL + COD	COD 20' + AL	TRAM 20' + AL
Duração Média	3.00	13.50	71.00	27.00	158.50	172.00	155.50	138.50
Desvio Padrão	9.49	16.67	7.75	10.33	14.54	12.95	20.74	23.93
Erro Padrão	3.00	5.28	2.45	3.27	4.60	4.10	6.56	7.57

O gráfico 5.6 representa a duração do bloqueio motor (claudicação) onde se observa diferença significativa ($p < 0.01$) entre as médias de duração do grupo controle AL e todos os grupos com associações a opióides (AL + COD), (AL + TRAM), (COD 20' + AL), (TRAM 20' + AL). Além disso, fica demonstrado que a

COD embora tenha pequeno efeito no bloqueio motor e diferente de AL ($p < 0.01$), quando associada (AL + COD) a duração do bloqueio é maior que AL ($p < 0.01$). Também deve ser considerado que nos quatro grupos com associações de anestésicos a opióides o bloqueio motor superou o sensitivo (Gráfico 5.6 e Gráfico 5.1)

Gráfico 5.6 - Valores médios (minutos) $\pm$ EP da duração do bloqueio motor (claudicação) nos diferentes grupos

	2	3	4	5	6	7	8
1	ns	x	ns	x	x	x	x
2		x	ns	x	x	x	x
3			x	x	x	x	x
4				x	x	x	x
5					ns	ns	ns
6						x	x
7							ns
8							

Códigos gráfico 5.6 (x = $p < 0.01$): (1)COD=codeína; (2) TRAM= tramadol; (3) AL=anestésico local; (4) AL SV=Anestésico local sem vasoconstritor; (5) AL + TRAM= anestésico + tramadol; (6) AL + COD= anestésico + codeína; (7) Codeína 20'+AL= codeína injetada antes do AL; (8) TRAM20'+AL= tramadol injetado antes do AL

No gráfico 5.7, estão expostas os valores das médias de duração do bloqueio motor (ausência de reflexo extensor), em que é observado que tanto para o grupo (AL + COD) e (AL + TRAM) a um paralelismo de valores entre t (10) e t (100) e que são diferentes estatisticamente ($p < 0.01$) do controle AL em que há paralelismo apenas entre t (10) e t (30).

Gráfico 5.7 - Valores médios do score (1 – 3) da ausência do reflexo motor (claudicação)

A observação dos grupos ao longo do tempo de ação (ANEXO C) demonstra que há diferença estatística ($p < 0.0001$) entre os tempos. Para o bloqueio motor, tanto para AL + COD como AL + TRAM o intervalo teve significância entre t(10) a t(120). Já a associação intervalada foi mais uma vez menos efetiva, demonstrando significância estatística entre t(20) a t(110) e t(40) a t(100) para COD 20' + AL e TRAM 20' + AL, respectivamente.

5.4 DURAÇÃO DO BLOQUEIO PROPRIOCEPTIVO

Os valores de duração do bloqueio proprioceptivo estão dispostos na tabela 5.7 e os valores médios e erro padrão estão na tabela 5.8.

Tabela 5.7 – Valores absolutos do tempo de duração (minutos) para o bloqueio proprioceptivo

Ratos	Duração anestésica (bloqueio proprioceptivo)							
	COD	TRAM	AL	AL SV	AL + TRAM	AL + COD	COD 20' + AL	TRAM 20' + AL
1	0	0	60	25	135	185	125	140
2	0	0	60	30	135	160	180	150
3	0	15	70	30	150	175	135	175
4	0	45	60	0	160	145	125	155
5	0	0	60	35	150	180	125	175
6	0	0	70	35	170	170	180	115
7	0	35	70	25	165	170	130	125
8	30	20	70	25	160	180	130	125
9	0	15	75	25	165	165	135	115
10	0	0	75	25	170	180	155	115

Tabela 5.8 – Valores da média aritmética (minutos) $\pm$ EP bloqueio proprioceptivo.

	Duração do bloqueio proprioceptivo em minutos							
	COD	TRAM	AL	AL SV	AL + TRAM	AL + COD	COD 20' + AL	TRAM 20' + AL
Duração Média	3.00	13.00	67.00	25.50	156.00	171.00	142.00	139.00
Desvio Padrão	9.49	16.36	6.32	9.85	13.08	11.97	21.88	23.78
Erro Padrão	3.00	5.18	2.00	3.12	4.14	3.79	6.93	7.53

O histograma a seguir (gráfico 5.8) representa os valores médios $\pm$ EP do reflexo de salto (bloqueio proprioceptivo) também apresenta diferença entre os grupos testados ($p < 0.01$). Entretanto, em nenhuma das comparações entre codeína e tramadol (COD) e (TRAM); (AL + COD) e (AL + TRAM); (COD 20' AL) e (TRAM 20' + AL) houveram diferenças ($p < 0.01$).

Gráfico 5.8 - Valores médios (minutos) $\pm$ EP da duração do bloqueio proprioceptivo

	2	3	4	5	6	7	8
1	ns	x	ns	x	x	X	x
2		x	ns	x	x	X	x
3			x	x	x	X	x
4				x	x	X	x
5					ns	ns	ns
6						X	x
7							ns
8							

Códigos do gráfico 5.8 ($x = p < 0.01$) : (1) COD=codeína; (2) TRAM= tramadol; (3) AL=anestésico local; (4) AL SV=Anestésico local sem vasoconstritor; (5) AL + TRAM= anestésico + tramadol; (6) AL + COD= anestésico + codeína; (7) Codeína 20'+AL= codeína injetada antes do AL; (8) TRAM20'+AL= tramadol injetado antes do AL

O gráfico 5.9 representa os valores da variável reflexo do salto (bloqueio proprioceptivo) ao longo do tempo. Houve diferença estatística ($p < 0.0001$) entre os tempos.

Gráfico 5.9 – Valores médios do índice da ausência do reflexo proprioceptivo (score 0-3) ao longo do tempo (minutos)

A análise ao longo do tempo (ANEXO D) demonstra que há diferença estatística ($p < 0.0001$) entre os tempos. Para o bloqueio proprioceptivo assim como o sensitivo, o AL + COD foi superior a AL + TRAM o intervalo teve significância entre $t(10)$ a $t(120)$ e $t(10)$ a $t(110)$, respectivamente. Na associação intervalada tanto COD 20' + AL quanto TRAM 20' + AL demonstraram o intervalo de $t(40)$ a $t(100)$ com significância ($p < 0.0001$).

5.5 Comparação entre os tipos de bloqueios

O histograma abaixo (gráfico 5.10) compara os valores das médias de duração $\pm$ EP entre os diferentes grupos de bloqueio sensitivo, motor e proprioceptivo. Houve diferença estatística entre os grupos ($p < 0.01$) conforme demonstrado no quadro código de significância do gráfico. Além disso, a duração de ação do (AL + COD) foi maior que (COD), (COD20' + AL) e que os outros grupos a ($p < 0,05$), para os três bloqueios avaliados (sensitivo, motor e proprioceptivo).

Gráfico 5.10 - Valores médios de duração (min) $\pm$ EP dos bloqueios sensitivo, motor e proprioceptivo nos diferentes grupos estudados: COD=codeína; AL=anestésico local; AL SV=Anestésico local sem vasoconstritor; TRAM= tramadol; AL + TRAM= anestésico + tramadol; TRAM 20'+AL= tramadol injetado antes do AL; COD 20'+AL= codeína injetada antes do AL.

Anexo Gráfico 5.10 (x = p < 0.01)																							
Sensitivo								Motor								Proprioceptivo							
	2	3	4	5	6	7	8		2	3	4	5	6	7	8		2	3	4	5	6	7	8
1	ns	x	ns	x	X	x	x	1	ns	x	Ns	x	X	X	x	1	ns	x	ns	x	x	x	x
2		x	ns	x	X	x	x	2		x	Ns	x	X	X	x	2		x	ns	x	x	x	x
3			x	x	X	x	x	3			X	x	X	X	x	3			x	x	x	x	x
4				x	X	x	x	4				x	X	X	x	4				x	x	x	x
5					ns	ns	ns	5					ns	Ns	ns	5					ns	ns	ns
6						x	X	6						X	x	6						x	x
7							ns	7							ns	7							ns
8								8								8							

Códigos do gráfico 5.10: (1) COD=codeína; (2) TRAM= tramadol; (3) AL=anestésico local; (4) AL SV=Anestésico local sem vasoconstritor; (5) AL + TRAM= anestésico + tramadol; (6) AL + COD= anestésico + codeína; (7) Codeína20'+AL= codeína injetada antes do AL; (8) TRAM20'+AL= tramadol injetado antes do AL;

5.5 Ocorrência de efeitos adversos

Tratando-se da ocorrência de efeitos adversos após administração dos diferentes fármacos, a tabela 5.9 demonstra o número absoluto de ocorrências destes eventos.

Tabela 5.9 – Quantidade de animais com ocorrência de efeitos adversos

Ocorrência de efeitos adversos									
Alteração	COD	TRAM	AL	AL SV	AL + TRAM	AL + COD	COD 20' + AL	TRAM 20' + AL	
Alterações respiratórias leves e transitórias	3	2			1		1		
Convulsões	1	1							
Morte	1								

6 DISCUSSÃO

Um fato muito comum na clínica odontológica é os pacientes associarem os procedimentos a dor, portanto, uma experiência nos tratamentos dolorosos poderá levá-los a evitarem ou postergarem os tratamentos odontológicos (Carr e Gordas, 1999). Este fato, assim como este experimento, elucida a necessidade crescente de desenvolvimento de fármacos, associações e técnicas que satisfaçam o conforto esperado pelo paciente para que assim este sempre esteja à procura de boas condições de saúde.

A previsão e a experiência de dor associada ao tratamento de canal são as maiores fontes de medo para os pacientes odontológicos e uma preocupação importante vivida pelos cirurgiões-dentistas diariamente. Este fato torna muitas vezes necessário o uso de AL suplementar durante o tratamento ou de outros fármacos. Sejam dores pré-operatórias, operatórias ou pós-operatórias são normalmente previstas e, tendo o paciente passado por experiências anteriores são lembradas e sempre divididas pelos pacientes (Pak; White, 2011). Considerando-se estes aspectos, é cada vez mais necessário o encontro de um fármaco AL que possa oferecer anestesia e analgesia ao paciente, sem necessidade de drogas suplementares para casos onde a resposta dolorosa pode ser exacerbada.

O uso de adjuvantes anestésicos tem sido utilizado ao longo de anos nas pesquisas de terapêutica medicamentosa e ainda têm sido objeto de muito interesse. Vários destes componentes farmacológicos já têm seus defensores, entretanto as evidências de benefícios significativos são escassas para alguns como clonidina e adrenalina. Outros tiveram sua efetividade descoberta ao custo de efeitos colaterais freqüentes como a neostigmina. Já os adjuvantes opióides têm uma história de sucesso de pesquisas e uso, especialmente nos espaços subaracnóide e epidural e, juntamente com os sistemas de cápsulas lisossomais representam hoje a área de maiores frutos na corrente de pesquisas sobre adjuvantes anestésicos (Wiles; Nathansom, 2010).

A avaliação do potencial analgésico de drogas e tratamentos diferentes é dependente do uso de modelo animal validado para a análise da dor. Considerando-se que este experimento é baseado em associações farmacológicas (protocolos) não estabelecidas na literatura, justifica-se, portanto, o uso do modelo com ratos para nossas investigações.

A Tabela 5.1 demonstra que os dados demográficos obtidos neste experimento têm características de estudos quantitativos comportamentais situadas dentro dos aspectos fundamentais descritos por Thalhammer *et al.* (1995), isto é, foram buscados os 4 critérios que são normalmente obtidos após no mínimo 12 semanas de vida do animal, sendo escolhidos, portanto os ratos: (1) que não demonstraram comportamento (morder, escapar, gemer) durante o exame ou o estímulo; (2) cujo comportamento em liberdade não foi alterado significativamente ao exame neurológico; (3) cuja repetição dos exames produziu resultados semelhantes; e (4) com peso corpóreo acima de 200 gramas.

A metodologia utilizada neste experimento (Figura 4.5) considerou que para o desenvolvimento de novos analgésicos ou de drogas mais efetivas (adjuvantes) é crucial que seja desenvolvido um modelo animal que possibilite a avaliação das diversas regiões cerebrais envolvidas no aspecto sensorial. E que a ativação nociceptiva por sistemas motores ou sensoriais seja canalizada por pelo menos uma porção central diferente (fibras sensitivas, motoras e proprioceptivas), sendo necessários diversos estímulos para sua análise (Jensen, 2010).

Estas considerações esclarecem nossa escolha pelo uso do nervo ciático, um nervo misto com similaridade de composição de fibras com o nervo trigêmio, que é também misto, tendo fibras responsáveis pela sensibilidade, motricidade, propriocepção e tato nas regiões maxilo-faciais.

Os testes comportamentais quantitativos (ex. Teste de Pressão Constante da Pata, Avaliação do Reflexo de Retirada, Avaliação de atividade de locomoção espontânea e Avaliação de resposta ao salto e localização tátil) são necessários para estabelecer uma reprodução de medidas da duração do bloqueio de função da região anestesiada. Os métodos de avaliação do status neurológico (mental, postural, galope, proprioceptivo, motor, anatômico e nociceptivo) de neurologia veterinária foram adaptados para os ratos e utilizados para monitorar alterações

funcionais separadamente durante o bloqueio do nervo ciático (Thalhammer *et al.*, 1995). Então, a escolha das funções nociceptiva, motora e proprioceptiva para este trabalho permitiram avaliar num mesmo bloqueio nervoso diversas medidas quantitativas diferentes (tempo, score, RRP) para cada tipo de função especificamente (Gráfico 5.10).

Para que não houvesse interferência na execução desses testes ocasionada por possíveis ações sistêmicas tanto AL quanto dos opióides, os ratos foram monitorados constantemente pela operadora quanto ao seu status mental. Para isso o animal foi considerado dentro da normalidade quando exibia sua atividade exploratória e de resposta comum às condições do ambiente. Caso não se encontrasse nesta normalidade, os testes seriam interrompidos.

Esta condição de interrupção experimental representou apenas 2,5 % de nossa amostra, uma vez que apenas um animal apresentou alterações motoras e respiratórias severas seguidas de convulsão e outro apresentou o mesmo quadro seguido de sangramento naso-orbicular e morte, ambos ocorridos após injeção da tramadol e codeína isolados, respectivamente (Tabela 5.9).

Como a região de acesso ao nervo ciático (fossa poplítea) tem uma anatomia com intensa vascularização, acredita-se que tais alterações tenham ocorrido por uma possível injeção intravascular dos fármacos, fato que pode ser justificado por nenhum dos outros animais dos mesmos grupos ou que envolvam os fármacos (TRAM ou COD) apresentaram qualquer alteração no status mental (Tabela 5.9).

Ainda assim, deve ser considerado que tanto a codeína quanto o tramadol foram escolhidos por serem opióides bem tolerados e com raros efeitos sistêmicos após sua administração periférica (Erichen *et al.*, 2005). O que está de acordo com Pozos *et al.*, (2006) que ao observarem efeitos da injeção de tramadol (50mg) periférico (no sítio cirúrgico) concluíram que, possivelmente seus efeitos foram mediados por influências periféricas diretas, já que a concentração do opióide no plasma sanguíneo foi indetectável.

Na análise das características anatômicas da região bloqueada, sabe-se que um nervo periférico é anestesiado a duração depende de características

como a farmacologia do AL e a anatomia do sítio de bloqueio. Então, quando considerado um mesmo fármaco, isto é, o AL padrão lidocaína, a descrição tradicional do “diferencial do bloqueio nervoso” postula que axônios de menor diâmetro são mais suscetíveis ao bloqueio do impulso nervoso (Thalhammer et al., 1995).

Então, se considerarmos que o nervo ciático é misto, uma vez que as fibras nervosas de amplo diâmetro (sensitivas) tiverem sido sensibilizadas pela droga, já terá sido alterada a percepção da informação carregada através das fibras rápidas e de menor diâmetro, como as motoras e proprioceptivas (Melzack, Wall, 1965). Assim, diferente de humanos, cuja racionalidade e comunicação permitem avaliar sensações isoladamente (dor), em ratos é necessário avaliar seu status neurológico geral para que o bloqueio seja considerado instalado.

O mesmo princípio do diâmetro da fibra nervosa e sua mielinização descrito anteriormente é satisfeito para ação das drogas opióides, que normalmente para sensibilizarem totalmente as fibras sensitivas (A – grande diâmetro e mielinizadas; C – pequeno diâmetro e sem mielina) já sensibilizaram as motoras e proprioceptivas (pequeno diâmetro e rápida condução). Fato comprovado por Dalkilic *et al.*, (2009) na medida que demonstraram que as fibras nervosas rápidas são mais suscetíveis ao tramadol que as médias ou moderadas.

Também, foram observadas neste experimento, que tanto para as associações quanto para os grupos isolados de AL e opióides, as atividades motoras e proprioceptivas (posturais) foram, normalmente, afetadas antes das sensitivas (Gráfico 5.3, 5.7 e 5.9) acordando com (Melzack, Wall, 1965; Dalkilic *et al.*, 2009)

Em contrapartida, estas atividades motoras e proprioceptivas foram afetadas em menor intensidade apenas nos opióides isolados COD e TRAM demonstrado através da maior prevalência de bloqueio parcial, score 2 (Gráfico 5.7 e 5.9). Ainda neste aspecto, o Gráfico 5.4 demonstra que apenas os grupos COD e TRAM tiveram a duração média de bloqueio parcial semelhante ao total ($p>0.01$)

Além disso, quanto ao tempo de duração dos bloqueios proprioceptivo e motor para todos os grupos, exceto COD e TRAM, a duração foi superior no bloqueio motor em relação a proprioceptivo e sensitivo, porém sem diferença estatística ($p < 0.01$). Então, embora este fato esteja de acordo com a literatura, justificado pelas fibras motoras e proprioceptivas serem mais finas e rápidas que as sensitivas de maior calibre Thalhammer et al. (1995), conforme a revisão da literatura, há uma confirmação das particularidades dos mecanismos de ação dos opióides, uma vez que quando isolados tem duração de bloqueio sensitivo maior que motor e proprioceptivo, sendo de maior relevância para a codeína (Gráfico 5.10).

Para o bloqueio motor e proprioceptivo, tanto em COD como em TRAM a média de duração não ultrapassou 20 min, enquanto para AL ambos ultrapassaram 60 minutos ($p < 0.01$). Já para o bloqueio sensitivo embora COD tenha alcançado 36 min e TRAM 21 min, ambos diferiram do AL ($p < 0.01$).

Ainda no Gráfico 5.10, ficou comprovado que a associação (AL + opióide) promoveu ações sinérgicas à anestesia, uma vez que conforme descrito anteriormente, os resultados demonstraram particularidades de ação em relação aos opióides isolados.

Tratando-se da via de injeção dos fármacos, foi escolhida a subcutânea na fossa poplíteia para todos os grupos, uma vez que possibilitou acesso direto às proximidades do nervo ciático, fato que buscou mimetizar a injeção submucosa do AL nas proximidades e ramificações do nervo trigêmeo.

No nosso experimento, onde foi utilizada a via subcutânea, a pequena dose de codeína isolada (0,5 mg/Kg) já demonstrou importante atividade antinociceptiva em nervo periférico, média de 36 minutos (Tabela 5.3). Em contrapartida, este achado se distancia das dosagens para injeção intraperitoneal em ratos, uma vez que Mitchell et al. (2010) comprovaram em ratos que apenas a dosagem de 1.75 mg/Kg de codeína isolada ou 0.44 mg/Kg quando em associação ao ibuprofeno ou paracetamol foi eficaz na atividade antihipernociceptiva.

Neste caso, a via de injeção do opióide foi o principal fator modificador, já que a injeção foi subcutânea na fossa poplíteia, o que permitiu acesso direto do fármaco aos limites ao nervo ciático. Além disso, utilizamos testes sensitivos, motores e proprioceptivos diretos na pata traseira do animal, o que permitiu a análise das interferências do fármaco nas ramificações do nervo ciático responsáveis. Já a administração sistêmica intraperitoneal, através das características farmacodinâmicas da droga, ocasiona uma distribuição sanguínea e metabolização da mesma, desta forma, provavelmente seria necessário uma maior dose para observação de efeitos gerais no SNP.

Tratando-se das particularidades do fármaco alvo deste experimento, a codeína, é considerada um analgésico opióide potente, bem tolerado, de mecanismo de ação complexo e, principalmente, cujo desempenho analgésico é excelente no SNP, chegando ao dobro que no SNC (Erichsen et al., 2005).

Considerando-se as características farmacológicas da codeína e dos demais fármacos, escolhemos para este experimento doses baseadas na máxima permitida e estabelecida pelo fabricante, e também, nos experimentos anteriores realizados no laboratório que nos permitiram observar, especialmente, a dose mínima de cada opióide que possibilitaria sinergismo de efeito.

Embora a morfina seja o opióide padrão para comparação na literatura, o tramadol foi utilizado na nossa comparação, em virtude de suas características farmacológicas e por ser hoje de maior uso para procedimentos ambulatoriais na área médica e o mais usado como opióide adjuvante (Wiles, Nathansom, 2010). Também, já ficou comprovado que sua combinação com anestésicos locais aumenta a duração do período de analgesia pós-operatório e reduz o consumo de analgésicos e anestésicos locais quando comparado ao anestésico local sozinho (Kapral et al., 1999).

Considerando-se as características químico-moleculares dos fármacos (*Quadro 4.1 e Quadro 4.2*), não foi necessário utilizar neste estudo o composto veículo dos fármacos codeína (veículo estéril qsp - acetato de sódio, ácido acético, crorobutanol, edetato de sódio, metabissulfito de sódio e água para injetáveis), tramadol (veículo estéril qsp – acetato triidratado de sódio e água para injetáveis) ou AL (veículo estéril qsp - cloreto de sódio e bissulfito de sódio) como

grupo controle de análise, uma vez que já está comprovado que estes são sais que não desempenham ação antinociceptiva. Desta forma, nos concentramos na comparação do opióide codeína e suas associações com o AL padrão de estudo (lidocaína) e ao opióide mais usado no meio médico ambulatorial (tramadol).

Ainda quanto às considerações químicas, é relevante considerarmos que tanto a codeína, quanto o tramadol e o AL têm em suas composições químicas veículos com características similares, isto é, veículo de água para injetáveis conservada nos mesmos tipos de sais como o acetato de sódio e cloreto de sódio, o que poderia favorecer a manipulação futura numa mesma ampola. No entanto, mesmo que não haja competição de sítio de ação entre AL e opióide, e suas composições químicas favoreçam associações numa mesma ampola, ainda são necessárias futuras investigações para estas confirmações.

Já quanto à composição química específica do AL (lidocaína), ele é normalmente utilizado no mercado associado a epinefrina (adrenalina), assim como neste experimento. Dessa forma utilizamos AL (lidocaína + adrenalina) e também o AL SV (sem vasoconstritor), a fim de confirmar as expectativas do mercado que o adjuvante adrenalina prolongaria a duração dos bloqueios sensitivo, motor e proprioceptivo, como exemplificado com 65.5 min (AL) e 25.5 min (AL SV) (Tabela 5.3, 5.5, 5.8).

Não nos concentramos em estudar a medicação opióide associada ao AL sem vasoconstritor (opióides + AL SV), uma vez que mesmo que esteja comprovado que a ação sinérgica do opióide seja com o AL e não com a adrenalina (North, 1993), com o advento de pesquisas com AL e vasoconstritores, é raro o uso odontológico de lidocaína sem vasoconstritor (AL SV).

Pensando-se na possibilidade de mecanismos de ações diferentes entre o tramadol e a codeína, ambos são bem tolerados pelo organismo humano (Erichsen et al., 2005; Lehmann 1997). No entanto, embora tenham mecanismos de ação semelhantes, com efeitos opióides não revertidos ou pouco revertidos pela naloxona (antagonista opióide padrão), é provável que a codeína tenha algum mecanismo diferencial que forneça maior potencia anestésica local e sinergismos de ação (Tsai et al., 2001).

Conforme Gráfico 5.1, este potencial anestésico superior da codeína foi comprovado na medida em que COD teve média de bloqueio sensitivo de 36 minutos comparados a apenas 20,5 minutos de TRAM. Embora o quadro de códigos do gráfico 6.1 não demonstre relevância estatística entre ambos ($p>0.01$) ficou confirmada sua maior potência.

Ao mesmo tempo, esta comprovação de atividade anestésica dos dois opióides isolados, mais uma vez confirma a capacidade de bloqueio sensitivo periférico em um nervo misto, o ciático, estando de acordo com Kotaro et al. (2008) que relataram efeito anestésico dos opióides no sistema nervoso periférico. Mas contradiz os achados por Yuge et al. (1985), que comprovaram não existir interferência significativa dos opióides na amplitude do potencial de ação da superfície radial do nervo ciático.

O Gráfico 5.2 através da análise do Reflexo de Retirada da Pata (RRP) após uso de analgesímetro, mais uma vez demonstra superioridade da COD em relação a TRAM, na medida que a codeína atingiu um maior pico médio de RRP (x10g) que TRAM, além de ter a queda mais gradual. Dessa forma, mostra que como para COD foi necessária maior força para o RRP, esta teve maior capacidade de bloqueio sensitivo que TRAM. Além disso, também demonstra superioridade ($p<0.05$) do sinergismo de AL+COD que teve resultados máximos paralelos entre t(10) e t(130) que AL+TRAM com t(10) a t(110).

Quanto ao tempo para instalação do bloqueio das funções ficou demonstrado que nos três tipos de bloqueios tanto COD como TRAM demoraram mais de 10 minutos para alcançarem seu bloqueio, e, além disso, foram na maior parte bloqueios parciais de função. Já o AL, AL+ COD e AL+TRAM ao t (10) apresentaram, na maior parte dos animais, bloqueio total das funções sensitiva, motora e proprioceptiva (Gráficos 5.3, 5.7 e 5.9). Este fato está de acordo com Thlhammer *et al.*, (1995) que demonstraram que após a injeção de lidocaína 1% (0,1ml) cerca de 40 segundos são necessários para início das anormalidades posturais e de andar (motoras) no rato.

Em contrapartida, ainda nos Gráficos 5.3, 5.7 e 5.9, ao se observar as associações intervaladas COD20' + AL e TRAM20' + AL, o tempo para instalação do bloqueio completo foi de aproximadamente 30 minutos para todos os

bloqueios, todavia não ocorreu diferença entre estes dois grupos ($p < 0.01$). Já para a duração total dos bloqueios sensitivo, motor e proprioceptivo AL+ COD diferiu de COD20' + AL e TRAM20' + AL ($p < 0.01$).

Ainda no que se refere ao intervalo de administração entre os fármacos, para as associações no bloqueio sensitivo (Gráfico 5.2), observa-se que tanto para o grupo COD 20' + AL quanto TRAM 20' + AL, a injeção do opióide 20 minutos anterior ao AL demonstrou-se menor efetividade do bloqueio do que a associação concomitante AL + TRAM ou AL + COD. Este fato sugere que embora o tempo de 20 minutos seja sugerido como necessário para redução máxima da amplitude do potencial de ação pelos opióides (Katzung et al., 2006), estes não atingiram melhor atividade quando injetados prévios ao AL. Isso sugere que tanto o opióide tramadol quanto codeína apresentaram a melhor atividade no bloqueio sensitivo quando injetados no mesmo momento que o AL, ou seja, um sinergismo de ação farmacológica.

Tratando-se da duração de bloqueio apenas da função motora (Gráfico 5.5), a codeína isolada demonstrou pequena atividade de bloqueio indicado pela claudicação e ausência do reflexo extensor. Além disso, esta atividade foi significativamente menor do que seu bloqueio sensitivo isolado e menor do que o bloqueio motor de tramadol ($p < 0.01$). Este fato está de acordo com Mitchell *et al.*, (2010), onde a injeção intraperitoneal de codeína comprovou que produz um decréscimo na função motora dose-dependente, porém significativa apenas a dose de 7mg/Kg, o que está distante da dose subcutânea de 0.05 escolhida para este estudo.

Ainda quanto ao bloqueio motor, as Tabelas 5.4 e 5.5 demonstram que o grupo COD teve mínima interferência quando comparado aos demais grupos, o que seria uma característica essencial e esperada a um anestésico, uma vez que permitiria ao paciente abandonar o consultório com a mobilidade bimaxilar e outras funções preservadas (Reuben; Connelly, 1995). Em contrapartida, ainda nas mesmas tabelas observa-se que na associação de COD a AL tanto no grupo AL+COD quanto COD20'+AL o bloqueio motor foi tão significativo quanto o sensitivo e proprioceptivo, ($p < 0.01$), fato que comprova que o opióide codeína

quando associado ao AL age em intensidade diferente de sua forma isolada, provavelmente pela indução de ações sinérgicas.

Mesmo com a essa consideração de interferência no bloqueio motor, a *Tabela 5.3* deixa evidente que a associação de COD foi satisfatória para o aumento da duração do bloqueio sensitivo em relação ao AL, sendo que AL+COD e COD20'+AL tiveram duração média de bloqueio 2,6 e 2,1 vezes maior que AL, respectivamente. Fato que mais uma vez satisfaz características esperadas a um adjuvante anestésico de aumento de duração de ação em pequenas dosagens.

Nossos resultados são pioneiros e promissores quanto a esta confirmação de sinergismos com a codeína, uma vez que sugerem que a associação AL + COD aumentou em 2,6 vezes a média de duração do bloqueio sensitivo em relação a AL. Fato de extrema consideração, já que a associação de uma dose mínima efetiva de COD (0.05 ml) foi capaz de proporcionar tanto sucesso que poderia ser revertido em conforto ao paciente.

Ainda se tratando destas associações, assim como Pozos et al., (2006); Cliff et al., (2005); Kaabachi et al. (2009) e Mert et al., (2002), a análise do bloqueio sensitivo demonstrou prolongar a duração do bloqueio completo em relação ao AL isolado $AL+COD > AL+TRAM > COD20'+AL = TRAM20'+AL > AL$, sendo as associações diferentes estatisticamente de AL $p<0.01$, porém não entre si (*Gráfico 5.1*). Além disso, as associações também apresentaram maior tempo de bloqueio do que o AL isolado na avaliação da motora e proprioceptiva (*Gráfico 5.7 e 5.9*).

Neste aspecto, retornando a análise de *Tabela 5.3* observamos que embora o resultado de associação de AL + COD e AL + TRAM ou COD 20' + AL e TRAM 20' + AL tenham alcançado valores médios de bloqueio sensitivo em minutos semelhantes ($p>0.01$), a codeína torna-se mais promissora na medida que apenas uma dose de 0.05 ml foi capaz de atingir efeitos semelhantes a 0.12 ml de tramadol. Estes dados vão de encontro à atração terapêutica descrita por Mitchell et al. (2010), em que se busca o sinergismo obtendo-se o máximo de antinocicepção com doses mínimas ativas de drogas, tendo aumento de eficácia terapêutica sem maiores efeitos indesejáveis.

As observações quantitativas do início, término e das diferenças de intensidade dos bloqueios nas funções sensitiva, motora e proprioceptiva ao longo do tempo, permitiram estabelecer doses e condições que resultaram em bloqueios desiguais, fato que foi essencial para as comparações entre os fármacos e a sugestão de possíveis protocolos clínicos (Gráficos 5.3; 5.7 e 5.9).

Enfim, nossos resultados confirmam o bloqueio opióide periférico, no entanto este experimento não nos permitiu salientar os mecanismos de ação. Sabe-se que este bloqueio poderia ser mediado por receptores opióides específicos ou ações inespecíficas na membrana celular com dependência de receptores acoplados (Jaffe; Rowe, 1996). No entanto, a revisão de literatura demonstrou que ainda não há clareza quanto aos mecanismos de ação destes fármacos.

Dentre as possibilidades ficou levantada a hipótese de que a estimulação de receptores opióide-específicos (μ , δ , κ), conforme sua expressão celular, ao ser estimulado poderia gerar efeitos diretos no maquinário intracelular que regularia a transmissão dentro da célula através de vesículas de exocitose (Copogna et al., 1993).

Haveria também a possibilidade de ação em receptores opióides inespecíficos, isto é, receptores que normalmente se encontram acoplados a canais de membrana celular, sendo sua ativação capaz de modificar a modulação iônica. Fato demonstrado por North (1993), em que a ativação membranal pré-sináptica poderia induzir a condutibilidade de K^+ e por Rhim e Miller (1994) que inibiria canais de Ca^{2+} .

Por fim, uma última atividade opióide-inespecífica seria em canais de Na^+ , através de mecanismos moleculares diferentes daqueles ocasionados por AL (Brau et al., 2000; Dalkilic et al., 2009).

Mesmo que a revisão de literatura tenha sugerido que o mecanismo de ação dos opióides seja complexo e pouco desmistificado, observou-se que alguns opióides, em virtude de sua composição molecular, tem sua ação concentrada em atividades iônicas (opióide-inespecíficas), tendo poucos efeitos nos receptores

específicos, o que seria importante em virtude da menor incidência de efeitos colaterais e dependência opióide associada a estes últimos receptores.

Tanto a codeína quanto o tramadol tem em sua cadeia molecular grupos hidroxilas unidas ao anel benzênico, o que seria fator de importância na condução nervosa (Kotaro et al., 2008). Em contrapartida, a codeína além de ser considerada um opióide de grande potência, diferente do tramadol essa não tem interferência na via monoaminérgica (Tsai et al., 2001), o que seria um grande benefício de sua ação em detrimento do outro opióide.

No que diz respeito à tentativa de associações farmacológicas, a combinação de um fármaco de ação central (opióide codeína) com um fármaco de ação periférica (AL lidocaína) vai de encontro à idéia de que unir fármacos cujas ações envolvem vias centrais e periféricas geram tempos de início e atividades de durações diferentes. Estes diversos sítios de ação dos fármacos poderiam aumentar a capacidade analgésica, além disso, os efeitos aditivos e sinérgicos poderiam acontecer com uso de menores doses (Kehlet; Dahl, 1993).

Esta investigação de protocolos adjuvantes anestésicos, compostos por associações a analgésicos, parte do conceito cada vez mais difundido de buscar ao paciente uma analgesia preemptiva, isto é, escolher por um tratamento que estabeleça a prevenção de dor antes mesmo que ela ocorra. Acordando com Kelly et al. (2001), busca-se, portanto evitar a ocorrência de uma sinalização de dor do local de injúria para o SNC, por isso fica esclarecida a busca de investigar se a associação do AL ao opióide codeína poderia contribuir para analgesia preemptiva, buscando-se o conforto do paciente desde antes da ocorrência da injúria e expandi-lo por longo período até o momento pós-operatório.

É também uma tentativa de solucionar a dor extrema dos procedimentos clínicos dolorosos como cirúrgicos e endodônticos para os pacientes com necessidades especiais de conforto. Embora em trabalhos recentes tenham sido evidenciados que as associações de diversos fármacos como rofecoxib, diclofenacos e tramadol trazem melhores resultados que o uso de um único fármaco convencional (Hirsh et al., 2007). A Revisão de literatura demonstrou que é muito pequena a exploração das associações com codeína, além disto nada está descrito quanto as suas propriedades junto ao AL.

Também deve ser considerado que há pacientes que não obtêm o conforto adequado com a dose terapêutica de AL e, nestes casos, o aumento do anestésico para doses próximas das máximas permitidas pode não oferecer nenhuma vantagem clínica. Nestes casos, a combinação do opióide em doses reduzidas poderia promover maior eficácia com menor morbidade que a uma dose única do próprio analgésico promoveria.

Sabemos que o aumento do alívio da dor poderia ser alcançado através da combinação de agonistas μ -opióides, como codeína, a um antiinflamatório inibidor de cicloxigenases. Além disso, já está comprovado o sinergismo de ações estando estes fármacos já disponíveis comercialmente (Raffa, 2001). Em contrapartida, Mitchell et al. (2010), esgotaram a tentativa de aumento deste sinergismo na associação com inibidores de cicloxigenases, na medida em que não encontraram nenhuma vantagem em unir dois inibidores de prostaglandinas com diferentes centros de ação (paracetamol e ibuprofeno) ao mesmo analgésico codeína.

Desta forma, perante a esta possibilidade de sinergismo comprovada para codeína e esgotada para associação codeína e AINES, ainda nada foi explorado quanto a sua associação a AL e a busca concomitante de analgesia e anestesia para o conforto do paciente.

Sabendo-se que a molecularidade opióide da codeína é considerada diferenciada dentro do grupo opióides, o que te proporciona maior concentração de efeitos em mecanismos membranares iônicos e menores efeitos de dependência. Assim, teria então possível atividade nos íons K^+ , Ca^{2+} e, até mesmo, Na^+ (Kotaro et al., 2008; North, 1993; Rhim, Miller, 1999), o que implicaria em redução ou bloqueio do potencial de ação celular por hiperpolarização.

A entrada de Ca^{2+} e indução de K^+ no terminal nervoso é considerada o gatilho para a liberação de neurotransmissores na fenda sináptica (Rhim, Miller, 1994). Se considerarmos o possível bloqueio de canais de Ca^{2+} e indução K^+ de pelos opióides codeína e tramadol conforme foi apresentado nesta revisão, associado ao bloqueio de canais de Na^+ pelos anestésicos locais mantendo a célula hiperpolarizada, haveria um sinergismo de efeito para o impedimento da condução nervosa.

Quanto às propriedades de estereoespecificidade dos opióides elas têm sido discutidas há bastante tempo. Desde a década de 80 busca-se a demonstração dos sítios específicos saturáveis a ligações dos fármacos e a relação de cada ligação ao seu efeito particular tal qual analgesia, tolerância e dependência.

Até o momento já são conhecidos e separados alguns dos isômeros e metabólitos ativos da codeína. Entretanto, mesmo sabendo-se que a *l*-codeína tenha boa atividade nociceptiva, também já ficou esclarecido que o efeito antitussígeno deste opióide não é dependente de estereoespecificidade (Thuy; Louis, 1980). Porém, ainda não foi totalmente desmistificado seus mecanismos de ação.

Assim, serão necessários mais esforços tecnológicos para separar o efeito analgésico do efeito antitussígeno de opióides como a codeína, já que até o momento não foi possível desmistificar totalmente o mecanismo de ação de cada isômero no seu sítio de ação.

Há de ser considerado que os efeitos da codeína no centro de tosse possivelmente seriam mediados por mecanismos e tipos de receptores diferentes daqueles conhecidos por “receptores opióides (específicos)” Thuy e Louis (1980). Então, fica aberta uma possibilidade de descobertas a fim de encontrar os isômeros capazes de atingir o melhor efeito adjuvante ao AL com menores efeitos indesejáveis.

Enfim, nossos resultados confirmam a hipótese de que a combinação de duas modalidades analgésicas, como opióides e anestésicos locais, poderia reduzir a incidência, a severidade da dor e, por consequência, a ansiedade dos pacientes (Kwak et al., 2007), sendo, portanto promissores para o cotidiano médico-odontológico.

Embora o tramadol seja um potente opióide com características farmacológicas já estabelecidas e uso na área médica consolidado, a codeína tem características farmacológicas e benefícios favoráveis ao uso adjuvante, uma vez que diferente do tramadol esta não age em outros neurotransmissores como de serotonina e no sistema monoaminérgico (Godoy et al., 2010). Além disso, sua

molecularidade composta em isômeros, ainda pode ser explorada em benefício da maior analgésica e menores efeitos colaterais aos pacientes.

As associações farmacológicas deste experimento demonstraram conforme a revisão da literatura alcançar analgesia suficiente conseguindo a adição ou o sinergismo dos efeitos esperados dos analgésicos, concomitantemente à redução dos efeitos secundários para o menor patamar possível (Kapral et al., 1999; Roubaux et al, 2004). Além disso, satisfazem os requisitos dos anestésicos locais modernos de alcançarem longa duração de ação, melhor seletividade nervosa, menores graus de bloqueio motor e menor incidência de toxicidade sistêmica (Wiles; Nathansom, 2010).

Mesmo que os mecanismos dos efeitos anestésicos locais do opióide codeína ainda não estejam totalmente elucidados, este estudo sugere evidências que este opióide, quando administrado como adjuvante ao AL, poderia trazer muitos benefícios ao controle da dor nos procedimentos odontológicos, no entanto são necessários maiores estudos para seu emprego.

7 CONCLUSÕES

- Embora o tramadol seja um potente opióide, a codeína tem características farmacológicas e benefícios mais favoráveis ao uso adjuvante.
- O uso concomitante de codeína ao AL melhora a eficácia do bloqueio sensitivo, motor e proprioceptivo, abrindo nova perspectiva no controle da dor a ser estudada em odontologia.

REFERÊNCIAS¹

Altunkay H, Ozer Y, Kargi E, Babuccu O. Comparison of local anaesthetic of tramadol with prilocaine for minor surgical procedures. Br J Anaesth. 2003; 90(3):320-2.

Andrade ED. Terapêutica Medicamentosa em Odontologia, São Paulo, 2^a edição, Artes Médicas, 2005.

Bamigdabe TA, Davidson C, Langford RM. Action of tramadol, its enantiomers and principal metabolite, o-desmethyiltramadol, on serotonin (5-HT) efflux and uptake in the rat dorsal raphe núcleos. Br J Anaesthetic. 1997;79:352.

Brau ME, Koch ED, Vogel W, Helpelmann G. Tonic blocking action of meperidine on Na⁺ and K⁺ channels in amphibian peripheram nerves.2000; 147:155.

Capogna M, Gähwiler BH, Thompson SM. Mechanism of μ -opioid receptor-mediated presynaptic inhibition in the rat hippocampus in vitro. J Physiol. 1993; 470:539-558

Carrs DB, Gordas LC. Acute Pain. Lancet. 1999;353:56.

Chau TT, Dewey WL. Morphine and intraventricular acetylcholine: effects on stereospecific opiate binding and reversal by isomers of antagonists. Fed Proc. 1976;35:310.

Cliff KSO, Philip L, Juliana MHT, Belle WYS. The analgesic efficacy of intravenous versus oral tramadol for preventing posoperative after third molar surgery. J Oral Maxillofac Surg. 2005; 63(8):1162-8.

Dalkilic N, Tuncer S, Bariskaner H, Kiziltan E. The effect of tramadol on the rat nerve conduction: a numerical analysis anda conduction velocity distribution study. The Pharmaceutical Society of Japan. 2009;129(4):485-93.

Dionne RA. Pharmacologic advances in orofacial pain: from molecules to medicine. J Dent Educ. 2001;65(12):1393-403.

¹ De Acordo com Estilo Vancouver.

Erichsen HK, Hao Jin-Xia, Xu Xiao-Jun, Blackburn-Munro. Comparative actions of the opioid analgesics morphine, methadone and codeine in rat models of peripheral and central neuropathic pain. *Pain*. 2005;116:347-58.

Garrido MJ, Valle M, Campanero MA. Modeling of the in vivo antinociceptive interaction between an opioid agonist, (+) o-desmethylnaloxone, and monoamine reuptake inhibitor, (-) o-desmethylnaloxone, in rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 2000; 293:352.

Gillen C, Haurand M, Kobelt DJ, Wnendt S. Affinity, potency and efficacy of tramadol and its metabolites at the cloned human μ -opioid receptor. *Arch Pharmacol*. 2000; 362:116-21.

Godoy ALPC, Morael NV, Martinez EZ, Carvalho TMJP, Marques MP, Lanchote VL. Simultaneous analysis of tramadol, O-desmethylnaloxone, and N-desmethylnaloxone enantiomers in rat plasma by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry: application to pharmacokinetics. *Chirality*. 2010; Nov (29): 1-7.

Hass DA. An update on local anesthetics in dentistry. *J Can Dent Assoc*. 2002; 68:546-51.

Hassan A, Ableitner A, Stein C. Inflammation of rat paw nerve enhances axonal transport of opioid receptors in the sciatic nerve and increases their density in the inflamed tissue. *Neuroscience*. 1993;55:185.

Hashimoto K, Amano T, Kasakura A, Uhl GR, Sora I, Sakai N *et al*. μ -Opioid Receptor-independent Facilitation of the Suppression of Sodium Currents by μ -opioid Analgesics in Thalamic Neurons. *Neurosci Lett*. 2009;62-7.

Helle KE, Jing-Xia H, Xiao-Jun X, Gordon BM. Comparative actions of the opioid analgesics morphine, methadone and codeine in rat models of peripheral and central neuropathic pain. *Pain* 2005;116:347-358.

Hirsh I, Kaploun A, Faris G *et al*: Tramadol improves patients' tolerance of transrectal ultrasound-guided prostate biopsy. *Urology*. 2007;69:491–94.

Jaber L, Swaim WD, Dionne RA. Immunohistochemical localization of μ -opioid receptors in human dental pulp. *J Endod*. 2003;29:108-10.

Jaffe RA, Rowe MA. A comparison of the local anesthetic effects of meperidine, fentanyl, and sufentanyl on dorsal root axons. *Anesth Analg*. 1996; 83:776-81.

Jensen K. Altered nociceptive C fibre input to primary somatosensory cortex in a animal model of hyperalgesia. *Eur J Pain*. 2010;1-8.

Jiménez-Andrade JM, Ortiz MI, Pérez-Urizar J, Aguirre-Bañuelos P, Granados-Soto V, Castañeda-Hernández G. Synergistic effects between codeine and diclofenac after local, spinal, and systemic administration. *Pharmacol Biochem Behav* 2003;76:463-71.

Kapral S, Gollmann G, Walrt B, Likar R, Sladen RN, Weinstabl C, Lehofer F. Tramadol added to mepivacaine prolongs the duration of an axillary brachial plxus blockade. *Anesth Analg*. 1999;88:853-6.

Kaabachi O, Ouezini R, Konbaa W, Ghrab B, Zargouni A, Abdelaziz BA. Tramadol as an Adjuvant to Lidocaine for Axillary Brachial Plexus Block. *Anesth & Analg*. 2009; 367-70.

Kapral S, Gollmann G, Walt B, Likar R, Sladen RN, Weinstabl C, et al. Tramadol added to mepivacaine prolongs the saturations of an axillafray brachial plexus blockade. *Anesthe Analg*. 1999;88:853-6.

Katzung BG. Basic and clinical Pharmacology. 10 ed. McGraw Hill, 2007, 490-508.

Kelly DJ, Ahmad M, Brull SJ. Preemptive analgesia II:Recent advances and current trends. *Can J Anesth*. 2001;48:1091.

Kennedy C, Hendeerson S. μ -Opioid receptor inhibition of calcium current:development of homologous tolerance in single SH-SY5Y cells after chronic exposure to morphine in vitro. *J Pharmacol Exp Ther*. 1991; 40:1000-5.

Kehlet H, Dahl JB. The value of “multimodal” or “balanced analgesia” in postoperative pain treatment. *Anesth Analg*.1993;77:1048.

Kirchheiner J, Schmidt H, Tzvetkov M, Keulen JT, Lötsch J, Roots I, Brockmüller J. Pharmacokinetics of codeine and its metabolite morphine in ultra-rapid metabolizers due to CYP2D6 duplication, *Pharmacogenomics J*. 2007; Aug;7(4):257-65.

Kotaro M, Tsugumi F, Terumasa N, Eiichi Kumamoto. Inhibitory effects of opioids on compound action potentials in frog sciatic nerves and their chemical structures. *Life Sciences*. 2008; 83:198-207.

Kwak K, Chung H, Lim C, Han C, Choi G, Lim D, Kim S, Jeon Y. A combination of lidocaine (lignocaine) and remifentanyl reduces pain during propofol injection. *Clin Drug Investig*. 2007; 27: 493–7.

Lehmann KA. Tramadol in acute pain. *Drugs*. 1997;53 Suppl 2:25-33.

Mannion S, O'Callaghan S, Murphy DB, Shorten GD. Tramadol as adjunct to psoas compartment block with levobupivacaine 0.5%: a randomized double-blinded study. *Br J Anaesth*. 2005; 94(3):352-6.

Mehlis DR, Brown P, Lefner A, Minn F. Tramadol hydrochloride: Short term efficacy in pain following dental surgery. *Clin Pharmacol Ther*. 1993;53:223.

Mehvar R, Elliott K, Parasrampur R, Eradiri O. Stereospecific high-performance liquid chromatographic analysis of tramadol and its O-demethylated (M1) and N,O-demethylated (M5) metabolites in human plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2007; Jun 1;852(1-2):152-9.

Melzack R, Wall PD. Pain mechanisms: a new theory. *Science*. 1965;19;150 (699):971-9.

Mert T, Gunes Y, Guen M, Gunay I, Ozcengiz D. Comparison of nerve conduction blocks by an opioid and local anesthetic. *Eur J Pharmacol*. 2002; 439: 77-81.

Milo S, Ansonoff M, King M et al: Codeine and 6-acetylcodeine analgesia in mice. *Cell Mol Neurobiol*. 2006;26:1011–19.

Mitchell D, Gelgor L, Weber J, Kamerman PR. Antihypernociceptive synergy between ibuprofen, paracetamol and codeine in rats. *Eur J of Pharm*. 2010;642: 86-92.

Nakamura A, Narita M, Miyoshi K, Shindo K, Okutsu D, Suzuki M, Higashiyama K, Suzuki T. Changes in the rewarding effects induced by tramadol and its active metabolite M1 after sciatic nerve injury in mice. *Psychopharmacology*. 2008; 200(3):307-16.

Narita M, Funada M, Susuki T. Regulation of opioid dependence by opioid receptor types. *Pharmacol Ther.* 2001; 89:1-15.

Narita M, Hashimoto K, Amano T, Niikura K, Nakamura A, Suzuki T. Post-synaptic action of morphine on glutamatergic neuronal transmission related to the descending antinociceptive pathway in the rat thalam. *J Neurochem.* 2008;104: 469–78.

North RA. Opioid actions on membrane ion channels. *Handbk Exp Physion* 1993; 104; 773-96.

Ortiz MI, Castro-Olguín J, Peña-Samaniego N, Castañeda-Hernández G. Probable activation of the opioid receptor-249.-cyclic GMP-K⁺ channels pathway by codeine. *Pharmacol Biochem Behav.* 2005;82:695–703.

Ortiz MI, Ponce-Monter H, Fernández-Martínez E, Peres-Hernandez N, Macías A, Rangel-flores E, Castañeda-Hernández G. Evaluation of the interaction between acetaminophen and opioids on the Hargreaves model of thermal hyperalgesia. *Pharmacol. Biochem. Behav* 2007; 88:47-54.

Pak JG, White SN. Pain Prevalence and Severity before, during, and after Root Canal Treatment: A Systematic Review. *J Endod.* 2011; 37 (4): 429-38

Pang WW, Huang PY, Change DP, Huanh MH. The peripheral analgesic effect of tramadol in reducing propofol injection pain: a comparison with lidocaine. *Reg. Anesthes Pain Mes.* 1999;24(3): 246.

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

Pozos AJ, Martínez-Rider R, Aguirre P, Pérez-Banuelos J. The effects of tramadol added to articaine on anesthesia duration. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;102:614-7.

Pozos AJ, Martínez-Rider R, Aguirre P, Pérez-Banuelos J. Tramadol Administered in combination of routes for reducing pain after removal of an impacted mandibular third molar. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007; 65:1633-9.

Power I, Brown DT, Wildsmith JAW. The effects of fentanyl, meperidine and diamorphine on nerve conduction *in vitro*. Reg Anesthe. 1991;16:204-8.

Radbruch L, Grond S, Lehmann KA. A risk-benefit assessment of tramadol in the management of pain. Drug Saf. 1996 Jul;15:8-29.

Raffa RB. Pharmacology of oral combination analgesics: Rational therapy for pain. J Clin Pharmacol Ther. 2001; 26:257-64.

Raffa RB, Friderichs E, Remains W, Shank RP, Codd EE, Vaught JL, et al. Complementary and synergistic antinociceptive interaction between the enantiomers of tramadol. J Pharmacol Exp Ther. 1993;267:331-40.

Randall LO, Selitto JJ. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. Arch Int Pharmacodyn Ther. 1957 Sep 1;111(4):409-19.

Remy C, Marret E, Bonnet F: State of the art of paracetamol in acute pain therapy. Curr Opin Anaesthesiol. 2006;19:562–5.

Reuben SS, Connelly NR. Postoperative analgesia for outpatient arthroscopic knee surgery with intraarticular bupivacaine and ketorolac. Anesth Analg. 1995; Jun; 80(6):1154-7.

Rhim H, Miller JR. Opioid receptors modulate diverse types of calcium channels in the nucleus tractus solitarius of the rat. J Neurosci 1994;4:7608–15.

Robaux S, Blunt C, Viel E, Cuvillon P, Nouguier P, Dautel G, et al. Tramadol added to 1,5% mepivacaine for axillary brachial plexus block improves postoperative analgesia dose-dependently. Anesth Analg. 2004; 98:1172-7.

Sacerdote P, Biachi M, Manfredi B, Panerai A. Effects of tramadol on immune responses and nociceptive thresholds in mice. Pain. 1997;72:325-30.

Sawynok J. Topical and peripherally acting analgesic. Pharmacol Rev. 2003;55:1-20.

Sevelius H, McCoy JF, Calmore JP. Dose response to codeine in patients with chronic cough. Clin Pharmacol Ther. 1971;12:449-455.

Scott LJ, Perry CM. Tramadol: A review of its use in perioperative pain. *Drugs*. 2000;60:139-76.

Smart D, Smith G, Lambert DG. Mu-opioids activate phospholipase C in SHSY5Y human neuroblastoma cells via calcium-channel opening. *Biochem J*. 1995;305:577-581.

Strumper D, Durieux ME. Antidepressants as long-acting local anesthetics. *Reg Anesth Pain Méd*. 2004;29:277-85.

Thalhammer JG, Vladimirova M, Bershadsky B, Strichartz GR. Neurologic evaluation of the rat during sciatic nerve block with lidocaine. *Anesthesiology*. 1995 Apr;82(4):1013-25.

Thuy TC, Louis SH. Comparative studies of the pharmacological effect of the d- and l-isomers of codeine. *J Pharm expl ter*. 1980;215 (3):668-672.

Tsai YC, Chang PJ, Jou IM. Direct tramadol application on sciatic nerve inhibits spinal somatosensory evoked potentials in rats. *Anesth Analg* 2001; 92: 1547-51.

Tufan M, Yasemin G, Mustafá G, Ismail G, Dilek Ozcengiz. Comparison of nerve conduction blocks by an opioid and local anesthetic. *Eur J Pharmacol* 2002;Mar 29;439(1-3):77-81.

Vickers MD, O'Flaherty D, Szekely SM, Read M, Yoshizumi J. Tramadol: pain relief by an opioid without depression of respiration. *Anaesthesia*. 1992;47:291-296.

Vickers MD, Paravicini D. Comparison of tramadol with morphine for post-operative pain following abdominal surgery. *Eur J Anaesthesiol*. 1995 May;12(3):265-71.

Wiles MD, Nathanson MH. Local anaesthetics and adjuvants – future developments. *Anaesthesia*. 2010;65(1): 22-37.

Williams DG, Hatch DJ, Howard RF. Codeine phosphate in paediatric medicine – *B J Anaest*. 2001;86(3):431-41.

Yuge O, Matsumoto M, Kitahata LM, Collins JG, Senami M. Direct opioid application to peripheral nerves does not alter compound action potentials. *Anesth Analg*. 1985; 64 (7): 667-71.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 – CEP. 05508-000 São Paulo, SP – Brasil
Telefone : (55) (011) 3091.7733 – e-mail: cep@icb.usp.br

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo registrado sob nº **057** nas fls. **87** do livro **02** para uso de animais em experimentação, sob a responsabilidade do Prof(a) Dr(a) Carlos Alberto Adde, Coordenador(a) da Linha de pesquisa **Análise funcional e histológica da influência da codeína e tramadol na duração do bloqueio nervoso ciático de rato** do qual participou(aram) o(s) **Talita Girio Carnaval e os pesquisadores Maria Aparecida Borsatti, Victor Elias Arana-Chavez**, está de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotado pela Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório (SBCAL) e foi aprovado pela **COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)** em **16.06.2010**, com validade de 1 anos.

São Paulo, 17 de junho de 2010.

Prof. Dr. WOTHAN TAVARES DE LIMA
Coordenador
CEEA - ICB/USP

Profa. Dra. PATRÍCIA GAMA
Secretária
CEEA – ICB/USP

ANEXO B – Descrição de significância do reflexo sensitivo (RRP) ao longo do tempo (min) - ($p < 0.0001 = x$).

[illegible][illegible]

TRAM								
(t)	-10	0	10	20	30	40	50	60
-10		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
0			NS	NS	NS	NS	NS	NS
10				NS	NS	NS	NS	NS
20					NS	NS	NS	NS
30						NS	NS	NS
40							NS	NS
50								NS
60								

[illegible]

AL + COD																					
(t)	-10	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130	140	150	160	170	180	190
-10		NS	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	NS	NS	NS	NS	NS	NS
0			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	NS	NS	NS	NS	NS	NS
10				NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
20					NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	X
30						NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	X
40							NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	X
50								NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	X
60									NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	X
70										NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	X
80											NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	X
90												NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	X
100													NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	X
110														NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	X
120															NS	NS	NS	NS	NS	NS	X
130																NS	NS	NS	NS	NS	X
140																	NS	NS	NS	NS	NS
150																		NS	NS	NS	NS
160																			NS	NS	NS
170																				NS	NS
180																					NS
190																					
AL + TRAM																					

[illegible][illegible]

ANEXO C – Descrição de significância do bloqueio de reflexo motor ao longo do tempo (min) -
($p < 0.0001 = x$)

[illegible][illegible]

TRAM								
(t)	-10	0	10	20	30	40	50	60
-10		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
0			NS	NS	NS	NS	NS	NS
10				NS	NS	NS	NS	NS
20					NS	NS	NS	NS
30						NS	NS	NS
40							NS	NS
50								NS
60								

AL SV							
(t)	-10	0	10	20	30	40	50
-10		NS	NS	NS	NS	NS	NS
0			NS	NS	NS	NS	NS
10				NS	NS	NS	NS
20					NS	NS	NS
30						NS	NS
40							NS
50							

[illegible]

ANEXO D – Descrição de significância do bloqueio de reflexo proprioceptivo ao longo do tempo (min) - ($p < 0.0001 = x$)

[illegible][illegible]

TRAM								
(t)	-10	0	10	20	30	40	50	60
-10		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
0			NS	NS	NS	NS	NS	NS
10				NS	NS	NS	NS	NS
20					NS	NS	NS	NS
30						NS	NS	NS
40							NS	NS
50								NS
60								

AL SV							
(t)	-10	0	10	20	30	40	50
-10		NS	NS	NS	NS	NS	NS
0			NS	NS	NS	NS	NS
10				NS	NS	NS	NS
20					NS	NS	NS
30						NS	NS
40							NS
50							

[illegible]

AL + TRAM

[illegible][illegible]