

LUIS ANTONIO ESMERINO

**Determinação da glicose sanguínea
em ratos normais e diabéticos
aloxânicos após administração de
soluções anestésicas locais com
vasoconstritores associados.**

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba da
Universidade Estadual de Campinas,
para obtenção do título de Mestre
em Ciências, Área de Farmacologia.

**PIRACICABA - SP
- 1991 -**

*As exemplares foram divididos
originais com faculdade de Piracicaba
CC 75/036/83
Piracicaba, 14 de fevereiro de 1992.*

LUIS ANTONIO ESMERINO

**Determinação da glicose sanguínea
em ratos normais e diabéticos
aloxânicos após administração de
soluções anestésicas locais com
vasoconstritores associados.**

Orientador : Prof. Dr. JOSÉ RANALI

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba da
Universidade Estadual de Campinas,
para obtenção do título de Mestre
em Ciências, Área de Farmacologia.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Prof. Dr. *JOSE RANALI*, pela orientação deste trabalho e pelo incentivo dado aos meus primeiros passos científicos.

AGRADECIMENTOS

A Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, na pessoa de seu Diretor, Prof. Dr. Renato Roberto Biral e seu diretor associado, Prof. Dr. Oswaldo Di Hipólito Junior.

Ao Prof. Dr. Eduardo Dias de Andrade pelo incentivo, apoio e pela amizade ao longo de todos esses anos.

A Profa. Dra. Maria Cecília Ferraz de Arruda Veiga, pelo auxílio durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Thales Rocha de Mattos Filho, coordenador dos Cursos de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela atenção durante o curso.

A todos os professores do Curso de Pós-graduação - Farmacologia, pelo incentivo, pelo apoio e por tornarem possível a realização deste trabalho.

Ao Prof. Antonio Luiz Rodrigues Junior da Faculdade de Odontologia de Araraquara - SP - UNESP, pela análise estatística deste trabalho.

Aos técnicos de laboratório Sr. José Carlos Gregorio, Sr. Moisés José Maria da Silva e Srta. Fabiana Foccus Casarotti, pela colaboração na parte experimental deste trabalho.

A Eliane Melo Franco e Patrícia Medeiros de Souza, colegas do Curso de Pós-Graduação, por terem cooperado nas determinações da glicemia.

A Srta. Maria Elisa dos Santos, Sra. Wilma Bizuti dos Santos, secretárias do curso de Pós-Graduação, pela atenção de sempre.

À Cíntia Pereira Machado pela colaboração no Summary.

À bibliotecária Sra. Sueli Aparecida de Oliveira Soliani, pela cooperação na revisão bibliográfica.

À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível Superior - pelo apoio a este trabalho.

À Universidade Metodista de Piracicaba, pelas horas liberadas para a realização deste trabalho.

À todos os colegas do Curso de Pós-Graduação - Farmacologia, pela amizade e atenção no decorrer do curso.

À todas as demais pessoas que de uma forma direta ou indireta cooperaram para realização deste trabalho, e que por acaso não foram citadas, a elas a minha mais profunda estima e consideração.

CONTEÚDO

CAPÍTULO	I	- Introdução.....	02
CAPÍTULO	II	- Revisão da Literatura.....	06
		1. - Regulação da Glicemia.....	06
		2. - Catecolaminas e Hiperglicemia.....	13
		3. - Diabetes mellitus e Catecolaminas.....	31
CAPÍTULO	III	- Proposição.....	42
CAPÍTULO	IV	- Material e Métodos.....	44
		1. - Seleção dos animais.....	44
		2. - Drogas.....	45
		3. - Indução do Diabetes.....	46
		4. - Procedimentos experimentais.....	47
		4.1. - Curvas glicêmicas em ratos.....	47
		4.2. - Soluções anestésicas e controles.....	47
		5. - Colheitas das amostras.....	48
		6. - Determinação da glicemia.....	49
		7. - Tratamento estatístico.....	51
CAPÍTULO	V	- Resultados.....	53
		1. - Comparação dos tratamentos entre animais sedados e não sedados.....	53
		2. - Comparação dos tratamentos entre ratos normais.....	58
		3. - Comparação dos tratamentos em ratos diabéticos aloxânicos.....	65
CAPÍTULO	VI	- Discussão.....	74
CAPÍTULO	VII	- Conclusão.....	85
CAPÍTULO	VIII	- Resumo.....	87
		Summary.....	88
CAPÍTULO	IX	- Referências Bibliográficas.....	90
CAPÍTULO	X	- Anexos.....	102
		Anexo 1.....	102
		Anexo 2.....	107

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

É de grande importância o uso das soluções anestésicas na prática odontológica. Vários procedimentos odontológicos rotineiramente realizados em pacientes conscientes não seriam possíveis sem o controle da dor. Assim, os anestésicos locais tornam o trabalho dentário mais receptivo pelo paciente, contribuindo para uma melhor saúde oral. Por outro lado, para vários profissionais, esses fármacos representam as únicas drogas administradas por via parenteral e conseqüentemente, a toxicidade, a eficácia e os possíveis efeitos colaterais são de particular interesse e preocupação.

Com a finalidade de se melhorar a eficiência dos anestésicos locais é prática comum a associação de substâncias vasoconstritoras nas soluções anestésicas locais. BRAUM (1903), foi quem primeiro utilizou a adrenalina associada à cocaína.

Geralmente, aceita-se que a adrenalina, ou outra substância do tipo catecolamina, quando empregadas em soluções anestésicas locais, prolongam a duração da anestesia local, pois mantêm a solução anestésica por mais tempo nas imediações do nervo periférico, através do retardamento de sua absorção (CARUANA et alii, 1982). Além disso, retardando a sua absorção, presumivelmente, os anestésicos locais teriam sua toxicidade minimizada através do retardo e redução da concentração sanguínea máxima do agente anestésico (JASTAK & YAGIELA, 1983) e, ainda, quando administradas por infiltração reduzem a perda de sangue associada à procedimentos cirúrgicos (NEIDLE, 1991).

Todavia, sabe-se, que as catecolaminas quando liberadas da medula adrenal produzem um importante conjunto de alterações metabólicas. Na integração dessas respostas, a adrenalina (1) rapidamente origina ácidos graxos como fonte de energia para os músculos; (2) mobiliza glicose como fonte de energia para o cérebro, pelo aumento da glicogenólise e gliconeogênese no fígado e pela diminuição da absorção de glicose nos músculos e outros órgãos; e (3) diminui a secreção de insulina que também previne a captação de glicose pelos tecidos periféricos. Como consequência, as manifestações clínicas incluem : hiperglicemia, hiperlactacidemia, hiperlipidemia, maior consumo de oxigênio e hipercalemia.

Entre essas manifestações clínicas nos propusemos a estudar a hiperglicemia. A princípio a elevação da taxa de glicose sanguínea causada por substâncias vasoconstritoras em anestésicos locais não teria um efeito significativo em pacientes normais, porém para o paciente diabético seria um efeito metabólico importante, visto que as alterações metabólicas causadas pelas catecolaminas são similares às alterações no paciente diabético.

SHERWIM et alii (1980) argumentam que a elevação das catecolaminas , que geralmente ocorrem durante o período de stress, pode causar um aumento de 20 a 30 mg/dL na taxa glicêmica. Por outro lado, NEIDLE (1991) considera que a medula adrenal pode liberar muito mais adrenalina em um período de grande stress do que as 18 µg contidas em um cartucho de solução anestésica típica, para uso odontológico.

Baseado nesses conceitos, propomos investigar as possíveis alterações na glicose sanguínea em ratos normais e diabéticos aloxânicos, sob a ação de anestésicos locais com diferentes vasoconstritores associados.

CAPÍTULO II

REVISÃO DA LITERATURA

1 - REGULAÇÃO DA GLICEMIA

O glicogênio é a principal forma de armazenamento de carboidratos em animais e a sua formação, a partir dos carboidratos da dieta, é denominada glicogênese. O glicogênio é encontrado principalmente no fígado (cerca de 6%) e nos músculos (cerca de 1%). Quando o organismo necessita de glicose o glicogênio armazenado é convertido à glicose dentro de um processo denominado glicogenólise (MURRAY et alii, 1990; GUYTON, 1989; HARPER et alii, 1982). Além desse mecanismo de produção e armazenamento de glicose temos outros e que são denominados de gliconeogênese.

A gliconeogênese inclui todos os mecanismos e vias responsáveis pela conversão de não carboidratos à glicose ou glicogênio. Os principais substratos são: o lactato, o glicerol e aminoácidos como alanina. O lactato através do ciclo de CORI é convertido à glicose, o glicerol através de mecanismos gliconeogênicos, a alanina pelo ciclo glicose-alanina. Esses processos geralmente ocorrem no fígado e rins (MURRAY et alii, 1990).

Nos músculos o glicogênio atua como fonte disponível de unidades de hexose para glicólise. A musculatura esquelética utiliza a glicose como fonte de energia formando o lactato e CO₂. No fígado, o glicogênio está relacionado com a liberação de unidades hexoses para manutenção da glicose sanguínea (MURRAY et alii, 1990; GUYTON, 1989).

Assim, a regulação da glicose sanguínea é feita através de três fontes: dos carboidratos da dieta; dos vários compostos glicogênicos que sofrem gliconeogênese; e do glicogênio hepático pela glicogenólise (MURRAY et alii, 1990).

A concentração da glicose sanguínea, na pessoa normal, é controlada dentro de uma faixa muito estreita, geralmente variando entre 80 a 100 mg/dL (mg/100mL;mg%), pela manhã (MURRAY et alii, 1990). Na verdade a taxa glicêmica em jejum, geralmente de 8 a 12 horas, depende de alguns fatores, entre os quais, podemos citar: o tipo de dieta, o período de jejum e a metodologia empregada para determinação desses valores (LIMA et alii, 1985).

Em bioquímica clínica os métodos mais utilizados para determinar a glicemia são: o método da ortotoluidina e o método da glicose oxidase (PILEGGI & SZUSTKIWICZ, 1980; MOURA, 1982; LIMA et alii, 1985), apesar de existirem outras técnicas, essas determinações são geralmente realizadas em soro ou plasma, embora a preferência seja a determinação em plasma. Os valores para glicemia em jejum são variáveis na literatura, os mais aceitos variam entre 70 a 110 mg/dL (LABTEST, 1985).

O método da ortotoluidina foi descrito por HULTMAN (1959), mas sofreu várias modificações. Hoje, porém, entre os métodos químicos, também chamados de colorimétricos, é o mais aceito e determina a concentração da glicose empregando-se o seu poder redutor. Os métodos enzimáticos surgiram posteriormente e são os únicos que dosam a glicose verdadeira. Como exemplo, poderíamos citar os métodos da glicose-oxidase e o método da hexoquinase (MDURA, 1982).

Outro método utilizado é o da tira reagente, uma modificação do método enzimático, como o Haemo-Glukotest[®] 20-800R (Boehringer-GERMANY). Esse método permite a determinação em sangue total. São considerados como valores de referência 70 a 100 mg/dL para glicemia em jejum. JUSTINO (1988) em exames laboratoriais em odontologia recomenda o uso dessas tiras reagentes no consultório dentário, onde o dentista possa querer excluir o diabetes mellitus de um diagnóstico. Segundo LIMA et alii (1985) as dosagens feitas em soro ou plasma são cerca de 10 mg/dL mais elevadas que as realizadas em sangue total.

FANTON et alii (1982) analisaram simultaneamente trinta amostras de sangue por três métodos: Manual (Ortotoluidina), automatizado (Glicose oxidase adaptada ao autoanalisador ABA-100) e fita reagente (Haemo-Glukotest[®] Boehringer-GERMANY). Segundo análise estatística efetuada os três métodos são concordantes aos valores apresentados. Esta concordância persistiu mesmo quando os valores foram agrupados como normais e elevados.

Os valores de referência para glicemia em jejum citados acima são para humanos, independente do sexo. Em ratos, ALTMAN (1961) considera como valor normal 66 (56-76) mg/dL para glicemia em jejum, em rato albino cepa Wistar, determinação feita em sangue total. GUIMARÃES et alii (1980) determinou glicemia plasmática em ratos, cepa Wistar, com 50 dias, com dezesseis horas de jejum e obteve valores de 89,4 (\pm 3,65) mg/dL.

A glicose é o único hidrato de carbono circulante no sangue; outros monossacarídeos (frutose e galactose), podem transitoriamente ser encontrados no sangue, após a alimentação, mas são rapidamente transformados em glicose pelo fígado. A glicemia aumenta para 120 a 160 mg/dL, durante a primeira hora após uma refeição (LIMA et alii, 1985; GUYTON, 1989).

Os mecanismos de retroalimentação para o controle glicêmico, logo trazem a concentração da glicose de volta aos níveis basais dentro de duas horas após a última absorção de carboidratos. Por outro lado, durante o período de inanição, a função gliconeogênica do fígado fornece a glicose necessária para manter a glicemia num nível normal (GUYTON, 1989).

O fígado funciona como importante sistema tampão da glicemia. Quando a glicemia aumenta, eleva-se o nível de secreção da insulina. A glicose é armazenada no fígado na forma de glicogênio. Então durante as horas que se seguem, quando a secreção de insulina diminui acompanhando a glicemia, o fígado libera de volta a glicose sanguínea através da secreção do glucagon (GUYTON, 1989).

Tanto a insulina quanto o glucagon desempenham funções importantes e independentes no controle de retroalimentação para manter a glicemia normal. Na hiperglicemia a insulina é secretada e na hipoglicemia o glucagon é secretado (GUYTON, 1989).

Na hipoglicemia, a queda do nível glicêmico sobre o hipotálamo estimula o sistema nervoso simpático. Por sua vez a adrenalina, secretada pelas supra-renais, libera maior quantidade de glicose pelo fígado. Em uma hipoglicemia prolongada, de horas ou dias, tanto o hormônio do crescimento quanto o cortisol são secretados. Esses hormônios diminuem o índice de utilização da glicose pela maioria das células do organismo (GUYTON, 1989).

A glicose é o único metabólito utilizado pelo sistema nervoso em condições fisiológicas. O sistema nervoso não pode sintetizar nem estocar glicose e também não pode extrair glicose da circulação contra um gradiente de concentração. Então, o cérebro é criticamente dependente de um contínuo suprimento de glicose circulante, e a manutenção da concentração da glicose é crucial para sua sobrevivência. Uma breve hipoglicemia pode causar severa disfunção cerebral, enquanto que uma hipoglicemia prolongada, pode causar morte cerebral (CRYER & GERICH, 1983).

Fatores que controlam a glicemia incluem: hormônios (Glucagon, insulina, adrenalina, cortisol, hormônio do crescimento, entre outros), controle neural (incluindo noradrenalina simpática) e sistema auto regulatório (CRYER & GERICH, 1983; GUYTON, 1989).

O glucagon é secretado das células A ou alfa, das ilhotas do pâncreas, dentro da circulação porta hepática. Age principalmente, se não exclusivamente, no fígado. Estimula a glicogenólise e gliconeogênese hepática. Em minutos aumenta a produção de glicose hepática (RIZZA et alii, 1979a). Normalmente, este aumento é transitório e a produção de glicose hepática retorna para níveis basais em aproximadamente 90 minutos, apesar de se manter a hiper glucagonemia. Assim, a resposta da glicose plasmática para o glucagon é também transitória (CRYER & GERICH, 1983).

A insulina é secretada pelas células B ou beta das ilhotas do pâncreas. Uma vez excretada para o sangue, geralmente após refeições com carboidratos, ocasiona uma rápida captação, armazenamento e utilização da glicose por quase todos os tecidos do organismo. Esse hormônio é importante para que a glicose plasmática não se eleve demasiadamente. Quando a glicose é muito elevada ocorre desidratação celular devido a pressão osmótica no líquido extracelular. Por outro lado, o aumento do nível da glicemia, geralmente acima de 180 mg/dL, causa sua perda pela urina o que contribui para uma diurese osmótica (GUYTON, 1989).

O pâncreas também secreta um outro hormônio, a somatostatina, através das células delta. Esse hormônio tem a capacidade de inibir tanto a secreção da insulina quanto do glucagon (GUYTON, 1989). O glucagon estimula a liberação de somatostatina, enquanto o efeito da insulina sobre a somatostatina ainda não está esclarecido (GOODMAN & GILMAN, 1987).

A ação hiperglicêmica da adrenalina, secretada pela medula adrenal, é mais complexa. Semelhante ao glucagon, a adrenalina estimula a glicogenólise, a gliconeogênese e o aumento transitório na produção de glicose hepática, em minutos. Entretanto, a adrenalina também limita a utilização de glicose (RIZZA et alii, 1979 b). Este efeito é persistente. Então, uma vez mantida a hiperadrenalinemia, o resultado é a manutenção da glicemia (CRYER & GERICH, 1983).

A hiperglicemia induzida pela adrenalina é o resultado de ambas ações do hormônio: direta e indireta (RIZZA et alii, 1980 a e b). A ação hiperglicêmica indireta, mediada largamente através de mecanismos alfa adrenérgicos, inclui a supressão da secreção de insulina. A ação hiperglicêmica direta, mediada largamente, mas não exclusivamente, através de mecanismos beta adrenérgicos em humanos, incluem a estimulação da produção de glicose hepática e a limitação da utilização de glicose (CRYER & GERICH, 1983).

SHERWIN et alii (1980) argumentam que, na regulação da glicemia, a adrenalina produz um aumento transitório na liberação de glicose hepática. Um aumento na magnitude, mas não na duração. Além disso, a adrenalina inibe a utilização de glicose. Esse último efeito converte a resposta transitória para uma resposta sustentada.

SACCA et alii (1983) sugerem que no início a adrenalina induz um aumento na produção de glicose devido a ativação da glicogenólise. Depois disso, o efeito da adrenalina na glicogenólise (mas não na gliconeogênese) diminui, e a adrenalina estimulando a gliconeogênese, vem a ser o maior fator para manutenção da produção de glicose hepática.

Normalmente o glucagon realiza um papel primário em promover a reversão da hipoglicemia induzida pela insulina. Por outro lado, mesmo na deficiência de glucagon, esse efeito pode ser amplamente compensado pela adrenalina, de forma que a reversão da hipoglicemia só não ocorre na ausência de ambos, glucagon e adrenalina (CRYER & GERICH, 1983; CRYER et alii, 1984).

Outros hormônios, como o cortisol e o hormônio do crescimento, também controlam a glicemia. O cortisol, um hormônio da córtex adrenal, limita o transporte de glicose para os tecidos, promovendo proteólise e estimulando gliconeogênese. O hormônio do crescimento, produzido na hipófise anterior, regula transporte de glicose para os tecidos e o seu excesso crônico causa resistência à insulina. Entretanto esses efeitos hiperglicêmicos requerem várias horas para se tornarem evidentes (CRYER & GERICH, 1983; GUYTON, 1989).

CRYER & GERICH (1983) argumentam que provavelmente nenhum desses dois hormônios, cortisol e hormônio do crescimento, são importantes no controle hormonal de curta duração da glicemia, embora eles possam ter importância na regulação de longa duração.

O mecanismo neural participa também na regulação da glicemia. Estudo em animais indicam que a estimulação do nervo simpático hepático resulta em um rápido aumento na liberação da glicose hepática e hiperglicemia (LAUTT, 1980). A estimulação direta do nervo periarterial em humanos causa aumento na concentração da glicose plasmática (NOBIN et alii, 1980). Segundo CRYER & GERICH (1983) estes efeitos poderiam ser mediados pela noradrenalina, o neurotransmissor liberado da transmissão axial pelo neurônio pós ganglionar simpático.

No processo de autorregulação da glicose, segundo HERS (1976), são consideradas evidências que a glicose, por si só, pode suprimir a liberação de glicose hepática. Admite-se o conceito de que a produção de glicose hepática é inversamente proporcional a sua concentração plasmática. Então, segundo CRYER & GERICH (1983), uma alteração na concentração de glicose plasmática por si só é um importante fator na regulação da glicemia e poderia ser independente dos fatores hormonais.

2 - CATECOLAMINAS E HIPERGLICEMIA

Drogas adrenérgicas são aquelas que produzem respostas teciduais semelhantes às produzidas por estimulação do sistema nervoso simpático e representam um importante grupo de fármacos. Os usos terapêuticos dessas drogas são vários. Na medicina geralmente são utilizadas como vasoconstritores para preparações oftálmicas e nasais, como agentes pressores para manter a pressão arterial em estados de choque vascular, como broncodilatadores em crises de asma e em alergias, incluindo o choque anafilático. Em odontologia, são utilizadas como vasoconstritores em soluções de anestésicos locais e para hemostasia (NEIDLE, 1991).

O termo catecolamina é frequentemente utilizado em referência a essas drogas como uma classe, mas é apropriadamente reservado para aminas simpatomiméticas que na verdade são derivadas do catecol, como a adrenalina, a noradrenalina e a dopamina. Todos os três fármacos são derivados da tirosina. Embora sejam derivados do catecol é vantajoso considerar todas as aminas adrenérgicas como derivadas da feniletilamina (NEIDLE, 1991).

Os anestésicos locais (YAGIELA, 1991; SILVA, 1989; GOODMAN & GILMAN, 1987) são fármacos que bloqueiam reversivelmente a condução de impulsos nas fibras nervosas. Embora várias substâncias químicas possam causar o bloqueio da condução nervosa, no entanto, para que uma substância possa ser utilizada como anestésico local deve apresentar certos requisitos como : bloqueio reversível do nervo; pouca irritabilidade; boa difusibilidade; baixa toxicidade; início rápido de ação e duração do efeito adequado às necessidades cirúrgicas habituais. Dos efeitos resultantes o mais importante é a abolição da dor. Essas drogas possuem uma configuração fundamental comum ao primeiro anestésico local verdadeiro, a cocaína e geralmente esses fármacos são identificados pelo sufixo "caína", como bupivacaína, lidocaína, etc.

A estrutura química dos anestésicos locais em comum se apresentam na forma de aminas terciárias, e mais raramente secundárias. A molécula de um anestésico local típico é constituída de três partes, como pode ser visto na figura 2.2.1. Uma cadeia alifática, sendo numa das extremidades um grupo amino com radicais alquila ligados ao nitrogênio e na outra extremidade um hidrocarboneto cíclico, geralmente aromático. O grupo amino representa a porção hidrofílica e confere maior difusão à droga, o grupo aromático confere melhor lipossolubilidade. Essas drogas são divididas em duas categorias : ésteres e amidas.


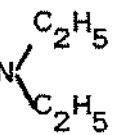
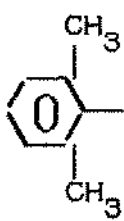
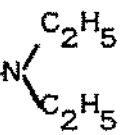
parte aromática	cadeia intermed.	grupo ami no term.	parte aromática	cadeia intermed.	grupo ami no term.
	ÉSTERES			AMIDAS	
	PROCAÍNA			LIDOCAÍNA	

FIGURA 2.2.1 - Fórmulas estruturais de anestésicos locais. Adaptado de YAGIELA (1991).

Geralmente os anestésicos locais são aminas, comportando-se como bases fracas. Essas aminas apresentam características estruturais intermediárias, podendo ser encontradas na forma neutra ou na forma ionizada, em proporções que dependem do pKa do composto considerado e o pH do meio em que se encontram. Como aminas, na forma de bases fracas, os anestésicos locais são instáveis e pouco solúveis em água. As soluções, geralmente cloridratos, são ácidas e apresentam na sua estrutura uma parte catiônica e outra aniônica.

BRAUM, no início do século, demonstrou que o acréscimo de adrenalina nas soluções anestésicas locais prolongava e intensificava bastante sua ação. A partir daí, tornou-se comum na prática clínica, a utilização de anestésico local associado a um vasoconstritor: adrenalina, noradrenalina ou um congênere sintético apropriado como a fenilefrina. O uso do vasoconstritor tem um duplo papel. Através da redução da taxa de absorção, a adrenalina não só mantém o anestésico junto ao local desejado, como também permite que a taxa de distribuição no organismo mantenha-se em equilíbrio com aquela em que é absorvido na circulação, reduzindo assim, sua toxicidade sistêmica.

Geralmente, quando associada a um anestésico local, a dose máxima de adrenalina não deve exceder a 200 µg. Essa dose equivale a 20 mL de uma solução anestésica local contendo adrenalina a 1:100.000 (REPORT of the Special Committee of the New York Heart Association, 1955). Na tabela 2.2.1 temos diferentes soluções anestésicas geralmente usadas em odontologia.

A anestesia local em odontologia apresenta grande segurança e desde que se obedeça as recomendações com relação a dosagem, raramente apresenta toxicidade sistêmica ou efeitos colaterais. Reações sistêmicas graves podem ocorrer através de injeções intravasculares acidentais. As manifestações alérgicas são raras e restringem-se aos agentes do grupo éster, raramente havendo relato desses problemas com agentes do grupo amida. Com relação ao anestésico, em si, nenhum efeito metabólico é relatado. O problema maior, está geralmente, nas soluções anestésicas com vasoconstritores associados.

Tabela 2.2.1 : Comparação entre alguns anestésicos locais usados em odontologia. Adaptado de YAGIELA (1991).

NOME PATENTEADO	CONTEÚDO DA PREPARAÇÃO	dose máxima		duraç. aneste- sia tec. moles	
		crianças mg/kg	adultos mg	Infilt maxila (min)	Bloq. mandib. (min)
Xilocaina c/ adrenalina	Cloridrato de lido- caina a 2%; adrena- lina a 1:100.000	7	500	170	190
Carbocaina c/ Neo-cobefrin	Cloridrato de mepi- vacaina a 2%; levo- nordefrina 1:20.000	6	400	130	185
Carbocaina	Cloridrato de mepi- vacaina a 3%	6	400	90	185
Citanest forte	Cloridrato de pri- locaina a 4%; adre- nalina a 1:200.000	8	600	140	220
Citanest	Cloridrato de pri- locaina a 4%	8	600	105	190
Marcaína c/ adrenalina	Cloridrato de bupi- vacaina a 0,5%; adre- nalina a 1:200.000	3	225	340	440
Duranest c/ adrenalina	Cloridrato de etido- caina a 1,5%; adre- nalina a 1:200.000	6	400	280	470
Ravocaina	Cloridrato de propo- poxicaina a 0,4% ; cloridrato de pro- caina a 2%; levonor- defrina a 1:20.000	0,275	20	145	175

A adrenalina é o mais antigo dos hormônios caracterizados quimicamente e a sua estrutura é conhecida desde a virada do século. A noradrenalina também possui sua estrutura conhecida durante muito tempo. Também está caracterizado que as catecolaminas afetam virtualmente todos os aspectos do metabolismo intermediário, ainda que o mecanismo preciso, no qual as catecolaminas agem no metabolismo fisiológico e hepatofisiológico não esteja totalmente compreendido (CRYER, 1984).

As catecolaminas agem por meio de dois grupos principais de receptores. Estes são chamados de alfa e beta adrenérgicos, e cada um apresenta duas subclasses, isto é, alfa 1 e alfa 2, beta 1 e beta 2. A adrenalina ativa ambos os sítios alfa e beta, portanto sua ação sobre um tecido que contenha ambos os receptores, depende da afinidade relativa destes receptores pelo hormônio. A noradrenalina em concentrações fisiológicas inicialmente se liga nos receptores alfa (MURRAY et alii, 1990).

As sensibilidades relativas desses receptores adrenérgicos para a adrenalina e noradrenalina são as seguintes: (1) nos receptores alfa 1, a adrenalina é igual ou mais potente que a noradrenalina; (2) nos receptores alfa 2, a adrenalina é mais ou menos potente que a noradrenalina, dependendo do tecido; (3) nos receptores beta 1, a adrenalina é tão potente quanto noradrenalina; (4) nos receptores beta 2, a adrenalina é muito mais potente do que a noradrenalina. Existem drogas que ativam e bloqueiam esses receptores e são denominadas agonistas e antagonistas (GOODMAN & GILMAN, 1987). As ações metabólicas mediadas por esses receptores podem ser observadas na tabela 2.2.2.

A adrenalina estimula secreção de insulina e glucagon através de receptores beta adrenérgicos (GERICH et alii, 1974; SAMOLS et alii, 1979 e HOLM, 1983) e que, embora a adrenalina iniba a secreção de insulina através de receptores alfa adrenérgicos, a hiperglicemia induzida pela adrenalina resulta no aumento da secreção de insulina (BERK et alii, 1985; STATEN et alii, 1989).

STRUTHERS et alii (1985) argumentam que o efeito da adrenalina na liberação de insulina é mediado por meio de adrenoceptores alfa 2 no pâncreas, enquanto que a liberação de insulina, como resposta à glicose num indivíduo em repouso, é independente do sistema adrenérgico alfa.

Tabela 2.2.2- Ações mediadas pelos vários receptores adrenérgicos. Adaptado de MURRAY et alii (1990).

ALFA ₁	ALFA ₂	BETA ₁	BETA ₂
Aumento da glicogenólise	Relaxamento da musculatura lisa do trato gastro-intestinal	Estimulação da lipólise	Aumento da gliconeogênese hepática
Contração da musculatura lisa dos vasos sangüíneos e trato genitourinário	Contração da musculatura lisa de alguns vasos sangüíneos	Contração miocárdica com : aumento de velocidade e força de contração	Aumento da glicogenólise hepática
	Inibição de Lipólise Liberação de renina Agregação plaquetária Secreção de insulina		Aumento da glicogenólise muscular Aumento da liberação de Insulina Glucagon Renina Relaxamento da musculatura lisa dos: Brônquios Vasos sangüíneos Trato genitourinário Trato gastrointestinal

No tecido adiposo, a adrenalina aumenta o AMP-cíclico, convertendo uma lipase sensível a este hormônio, na forma ativa (fosforilada). Esta enzima promove a lipólise que libera ácidos graxos na circulação. Estes ácidos graxos servem como fontes energéticas nos músculos, e podem ativar a gliconeogênese no fígado (MURRAY et alii, 1990). Essa ação lipolítica parece ser mediada pelo AMP-cíclico, via receptores adrenérgicos beta 1 (GOODMAN & GILMAN, 1987).

A noradrenalina é um importante agonista de receptores alfa e apresenta pouca ação sobre os receptores beta 2, mas de certo modo, é menos potente do que a adrenalina sobre receptores alfa da maioria dos órgãos. A noradrenalina causa hiperglicemia e outros efeitos metabólicos similares aos produzidos pela adrenalina, mas que são observados somente quando administrada em doses mais elevadas (GOODMAN & GILMAN, 1987).

SACCA et alii (1980) infundiram em indivíduos normais, adrenalina e noradrenalina ($0,05 \mu\text{g.Kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$) por 120 minutos e observaram a elevação da glicose plasmática. A adrenalina aumentou a glicemia em 40-45 mg/dL e a noradrenalina em 10-15 mg/dL.

Três subgrupos destes receptores adrenérgicos estão ligados ao sistema adenil-ciclase. Os hormônios que se ligam aos receptores beta 1 e beta 2 ativam a adenilato ciclase, enquanto os hormônios que se ligam aos receptores alfa 2, inibem esta enzima (MURRAY et alii, 1990).

A hiperglicemia induzida pelas catecolaminas é atribuível, em parte, à ativação através do AMP-cíclico, da glicogênio fosforilase hepática. Essa enzima converte o glicogênio em glicose-1-fosfato, que é a etapa limitante da velocidade da glicogenólise. A ação do AMP-cíclico resulta na inativação da glicogênio sintase, enzima que cataliza a transferência das unidades glicosil da UDP-glicose para o glicogênio. Esses dois efeitos do AMP-cíclico, somam-se para aumentar o débito de glicose a partir do fígado (GOODMAN & GILMAN, 1987).

O mecanismo de ação do AMP-cíclico para produzir essas alterações enzimáticas é complexo e resulta de uma série em cascata de reações de fosforilação de proteína. O AMP-cíclico interage com seu receptor intracelular, uma cinase protéica dependente de AMP, e causa a dissociação dessa enzima em subunidades catalíticas e subunidades reguladoras ativadas. A cinase protéica ativada pode fosforilar muitas proteínas, utilizando o ATP como substrato. Assim, a cinase protéica fosforila a glicogênio sintase e o resultado é a inativação da enzima. Ao mesmo tempo, a cinase protéica ativada fosforila e ativa a enzima fosforilase cinase. A fosforilase cinase é na verdade, outra cinase protéica e catalisa a fosforilação e a ativação da fosforilase. Essa sequência de etapas sucessivas de fosforilação permite uma amplificação considerável do sinal inicial.

A estimulação de pequeno número de receptores pode ativar grande número de moléculas de fosforilase em curto período de tempo. A hiperglicemia que resulta deriva principalmente da liberação da glicose do fígado para o sangue. Como o músculo não contém glicose-6-fosfatase, o produto final da glicogenólise no músculo é o lactato (GOODMAN & GILMAN, 1987).

As catecolaminas atuam em diversos órgãos e tecidos afetando os processos metabólicos, conforme pode ser observado na tabela 2.2.3. Na resposta metabólica integrada a adrenalina: (1) rapidamente origina ácidos graxos como combustível primário para a ação muscular; (2) mobiliza glicose como fonte energética para o cérebro, pelo aumento da glicogenólise e gliconeogênese no fígado e pela diminuição da absorção de glicose nos músculos e outros órgãos; e (3) diminui a liberação de insulina, que também previne a captação da glicose pelos tecidos periféricos e assim preservando-a para o sistema nervoso central (MURRAY et alii, 1990). Raramente ela causa glicosúria (GOODMAN & GILMAN, 1987).

Desde o início do século, sabe-se que a adrenalina causa um nítido aumento no nível da glicose sanguínea. CORI & CORI, em 1928, atribuíram a adrenalina o efeito de acelerar a glicogenólise hepática. Depois SOMOGYI em 1950 sugeriu que o maior efeito da adrenalina era de inibir a utilização da glicose periférica. Subsequentemente ALTSZULER et alii em 1967 demonstraram que a adrenalina causava hiperglicemia em cães pela estimulação da produção de glicose hepática e inibição na utilização da glicose. ISSEKUTS & ALLEN em 1972 observaram que doses farmacológicas de adrenalina também aumentavam a gliconeogênese hepática.

Tabela 2.2.3 - Respostas fisiológicas afetadas pelas catecolaminas no processo de luta ou fuga. Adaptado de MURRAY et alii (1990).

ORGÃO	PROCESSOS OU RESULTADOS
Cérebro	Aumento do fluxo sanguíneo Aumento do metabolismo da glicose
Sistema cardiovascular	Aumento da velocidade e força de contração Vasodilatação periférica
Sistema pulmonar	Aumento da provisão de oxigênio Broncodilatação Aumento da ventilação
Músculos	Aumento da glicogenólise Aumento da contração
Fígado	Aumento da produção de glicose Aumento da gliconeogênese Aumento da glicogenólise
Tecido adiposo	Aumento da lipólise Aumento de ácidos graxos e glicerol
Pele	Aumento do fluxo sanguíneo
Esqueleto	Diminuição da captação de glicose e sua utilização
Sistema gastrointestinal, geniturnário	Diminuição da síntese de proteínas
Tecido linfóide	Aumento da proteólise

SHERWIN et alii (1980) observaram que uma elevação da adrenalina plasmática comparada com aquelas observadas durante o stress fisiológico, causava uma sustentada elevação de 20 a 35 mg/dL da glicose plasmática em indivíduos normais. Esta ação hiperglicêmica é devido a um aumento transitório na produção de glicose hepática e também pela redução na taxa de utilização da glicose que contribui para a persistência da hiperglicemia. Essa ação seria reforçada pela interação com outros hormônios como o glucagon e o cortisol, como pode ser observado na figura 2.2.2.

	ADRENALINA	GLUCAGON + ADRENALINA	GLUCAGON + ADRENALINA + CORTISOL
Produção de glicose			
Magnitude	↑	↑ ↑	↑ ↑ ↑
Duração	transitória	transitória	persistente
Utilização de glicose	↓	↓	↓

Figura 2.2.2 - Ações da adrenalina e interações com outros hormônios antinsulínicos. Adaptado de SHERWIN et alii (1980).

SHAMOON, et alii (1980) observaram o efeito da adrenalina no metabolismo da glicose após absorção em humanos. A infusão de adrenalina ($1,2 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$ por cinco horas) em oito voluntários humanos com jejum de uma noite (adrenalina plasmática - $350 \mu\text{g}/\text{mL}$), aumentam a glicose plasmática de $90 \text{ mg}/\text{dL}$ para $125\text{--}130 \text{ mg}/\text{dL}$ entre 45 e 150 minutos. Em seguida declinou gradualmente na direção da linha basal. A adrenalina produziu um aumento imediato de cerca de 50% na produção de glicose hepática. Entretanto esta resposta foi somente transitória, e a produção de glicose hepática retornou para os níveis basais dentro de 90 a 120 minutos, apesar da contínua infusão do hormônio, conforme pode ser observado no lado esquerdo da figura 2.2.3.

O efeito transitório da adrenalina na produção de glicose hepática e na glicogenólise, não pode ser prontamente atribuído ao esgotamento do glicogênio hepático. Durante infusão com adrenalina, o total da produção glicose hepática é de $10\text{--}15 \text{ g}$, enquanto que o depósito total de glicogênio hepático após um jejum noturno é de $70\text{--}90 \text{ g}$ (HULTMAN & NILSSON, 1971). Com base nestes conceitos SHERWIN & SACCA (1984) infundiram adrenalina ($0,025 \mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) em três pacientes normais por 150 minutos e em seguida dobrou a taxa de infusão por 120 minutos e depois restaurou para a dose inicial por 90 minutos.

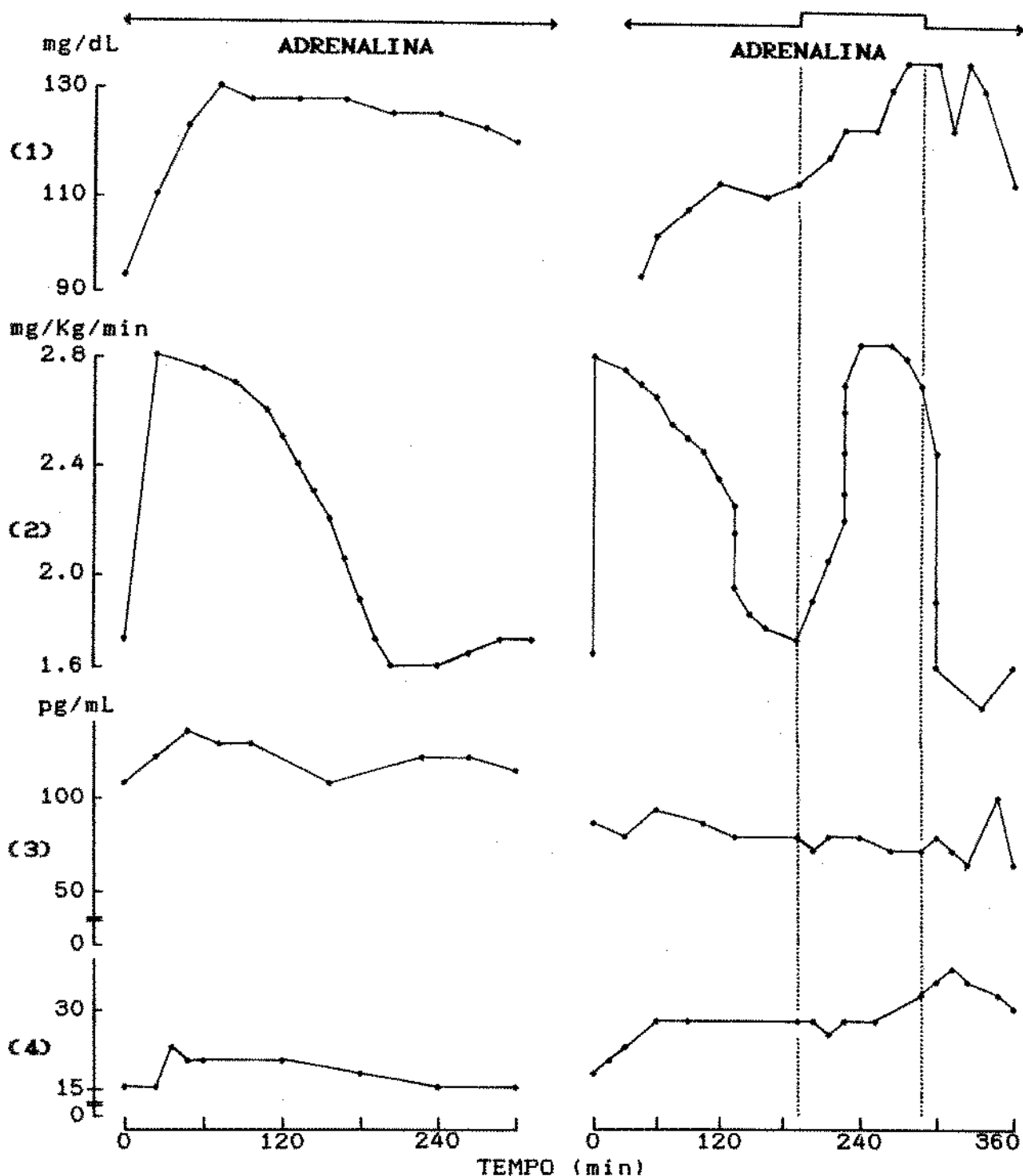


Figura 2.2.3 - Mudanças na glicose plasmática (1), produção de glicose hepática (2), concentração de glucagon (3) e insulina (4) plasmáticas durante infusão com adrenalina em indivíduos normais. Painel da esquerda, efeito da contínua infusão de adrenalina ($1,2 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$) por cinco horas ($n = 8$). Painel da direita, efeito da variação da concentração de adrenalina em humanos normais ($n = 3$). Foi infundido $0,025 \mu\text{g} \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ por 150 min, infusão foi aumentada $0,050$ por 120 min, e finalmente foi restaurada para taxa inicial de infusão. Adaptado de SHERWIN & SACCA (1984).

Na primeira parte do experimento a produção de glicose hepática aumentou transitóriamente, retornando para valores basais antes que a taxa de infusão fosse aumentada. Contudo, quando dobrou-se a taxa de infusão outra vez houve uma aceleração na produção de glicose, similar em magnitude à observada no início. Por outro lado, quando a taxa de infusão foi agudamente diminuída, a produção de glicose hepática precipitadamente diminuiu para um nível consideravelmente abaixo da linha basal, apesar da contínua infusão de adrenalina.

Estas descobertas sugerem que o fígado permanece continuamente responsivo à mudanças nas concentrações plasmáticas de adrenalina, podendo ocorrer adaptação para uma determinada concentração, conforme pode ser observado no lado direito da figura 2.2.3.

Adrenalina acelera a produção de glicose hepática pela estimulação da glicogenólise e gliconeogênese hepática. A gliconeogênese é aumentada pela mobilização de substratos gliconeogênicos provenientes do músculo (lactato, alanina) e gorduras (glicerol) e ácidos graxos livres que ativam a chave enzimática gliconeogênica. O resultado, hiperglicemia, é acentuada devido à adrenalina, simultaneamente, bloquear o aumento na recaptação da glicose que normalmente ocorre durante a hiperglicemia. Esse efeito na produção e remoção de glicose são facilitados pela habilidade da adrenalina em prevenir compensatoriamente o aumento da secreção de insulina pelas células beta do pâncreas. Embora o efeito estimulatório da adrenalina na glicogenólise declina rapidamente, a hiperglicemia continua devido a gliconeogênese, o bloqueio na recaptação de glicose e na secreção de insulina (SHERWIN & SACCA, 1984), conforme pode ser observado na figura 2.2.4.

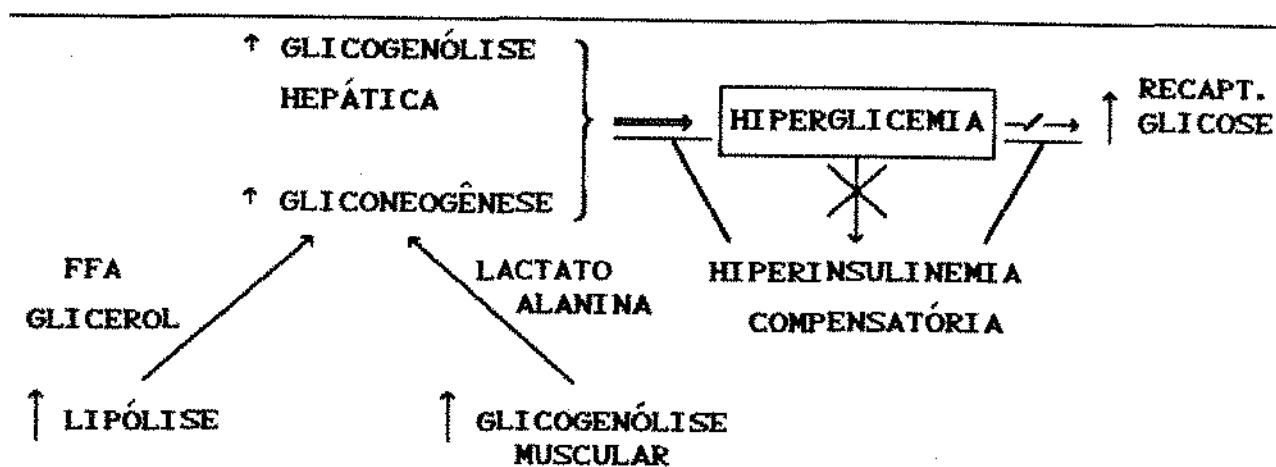


Figura 2.2.4 - Mecanismo do efeito da adrenalina na hiperglicemia em humanos. Adaptado de SHERWIN, SACCA (1984).

SHERWIN & SACCA (1984) estudaram em voluntários humanos o papel da adrenalina na glicogenólise e gliconeogênese hepática, em um intervalo de tempo de 90 minutos. Concluíram que:

(a) o aumento na produção de glicose em decorrência da glicogenólise aumentava nos primeiros 30 minutos (75 a 80%) e então retornava para linha basal em 60-90 minutos e, (b) o efeito na gliconeogênese, em contraste, aumentava progressivamente (≈ 20 para $\approx 65\%$), permanecendo elevado durante a infusão. Essa observação sugere que a gliconeogênese seja talvez o maior fator para manutenção da produção de glicose hepática estimulada pela adrenalina.

Alguns estudos (CHIDECKEL et alii, 1977; GERICH et alii 1976) usando doses relativamente altas de adrenalina, sugerem que o efeito da adrenalina na produção de glicose hepática poderia ser secundária devido ao aumento na secreção do glucagon. Porém, outros estudos indicam que a adrenalina age diretamente no fígado, mesmo em pequenas doses. SACCA et alii (1978 a); SHAMDON et alii (1980) e GRAY et alii (1980) mostraram que a adrenalina estimulava a produção de glicose hepática em cães e humanos sem afetar os níveis de glucagon e, mais importante, RIZZA et alii (1979 b) mostraram que a produção de glicose induzida pela adrenalina não era evitada quando a secreção do glucagon era inibida pela somatostatina.

Assim, alguns trabalhos mostram que a produção de glicose hepática induzida pela adrenalina pode ser secundária devido ao aumento na secreção do glucagon. Enquanto outros admitem que a adrenalina age diretamente no fígado, independente do glucagon.

GERICH et alii (1980) e RIZZA (1979a) estudaram, em indivíduos normais, a recuperação da glicose sangüínea proveniente da hipoglicemia induzida pela insulina e, observaram que essa recuperação era particularmente prejudicada em aproximadamente 40% durante infusão de somatostatina. Que o prejuízo na recuperação é devido a supressão da secreção do glucagon, parece evidente pelo fato de que esse prejuízo não ocorre quando o glucagon é novamente administrado. Por outro lado a recuperação do nível glicêmico é parcialmente prejudicada na deficiência do glucagon sugerindo, assim, um fator adicional. CRYER (1981) observou que a deficiência da adrenalina também prejudicava o restabelecimento do nível glicêmico em situações de hipoglicemia. CRYER et alii (1984) argumentam que o glucagon realiza um papel primário em promover a recuperação da hipoglicemia induzida pela insulina e, que a adrenalina compensa a deficiência do glucagon.

WOODSON & POTTER (1979) estudando a influência da liberação do glucagon na hiperglicemia por catecolaminas, observaram que em ratos normais a adrenalina estimulava o aumento na liberação do glucagon e inibia a secreção de insulina, conforme pode ser observado na figura 2.2.5. Quando o aumento do glucagon era inibido pela infusão da somatostatina, a hiperglicemia era reduzida em aproximadamente 67%.

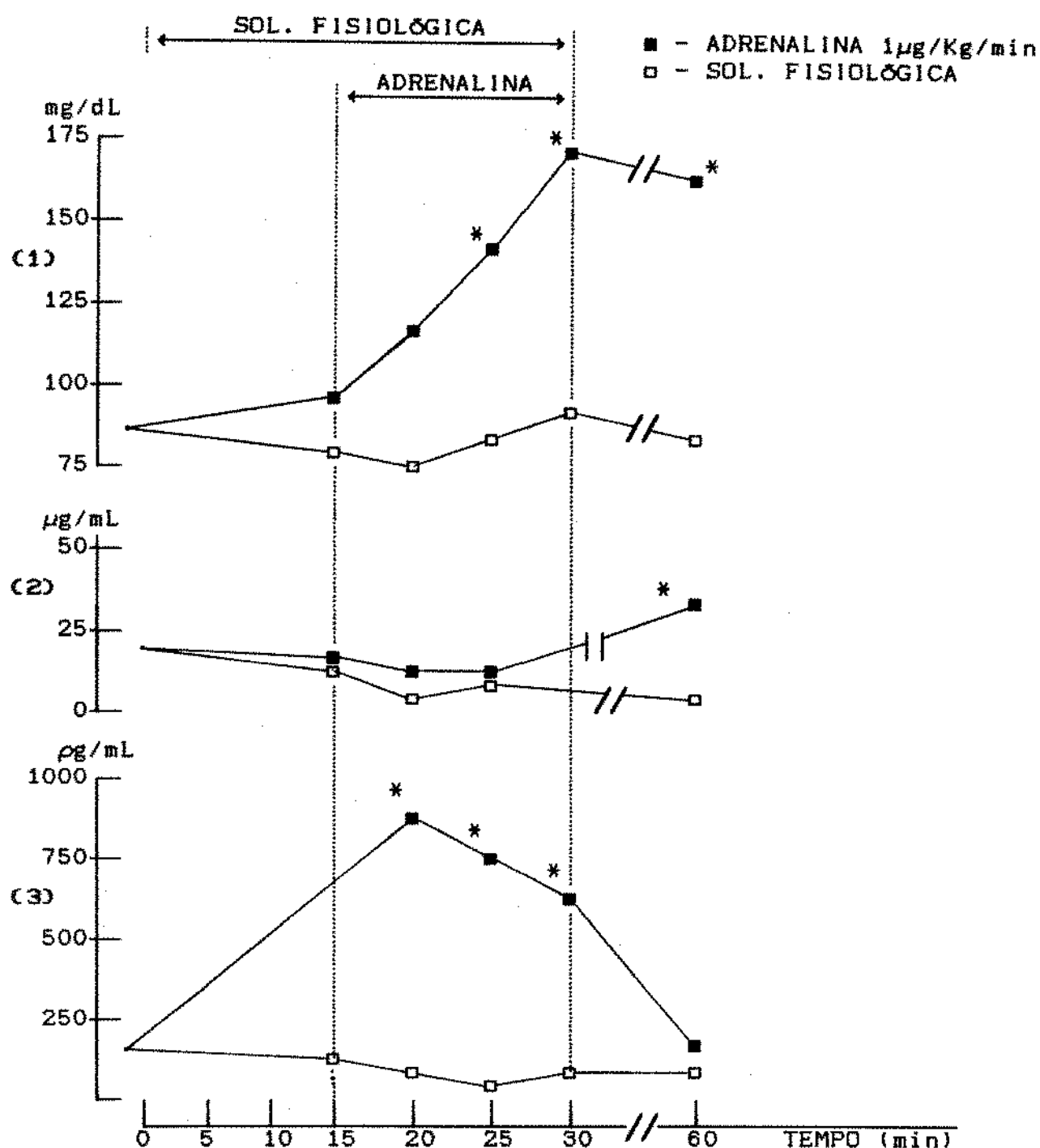


Figura 2.2.5 - Resposta hiperglicêmica produzida pela adrenalina (1 µg/Kg/min) em 9 ratos machos Holtzman, peso \approx 400 g anestesiados com pentobarbital 30 mg/Kg I.P.(1); associada com mudanças plasmáticas de insulina (2) e glucagon (3). Níveis de controle: glicose 86 ± 2 mg/dL (1), insulina 21 ± 5 µg/mL (2), glucagon 186 ± 22 pg/mL (3). Infusão de adrenalina por 30 min precedida de 15 min pela infusão de salina. (*) valores significativamente diferentes do controle. Adaptado de WOODSON & POTTER (1979).

A observação que a adrenalina bloqueia a utilização de glicose na ausência de uma queda da insulina, sugere que a adrenalina pode diretamente antagonizar o metabolismo da glicose mediado pela insulina. Esta possibilidade foi observada por WALAAS & WALAAS (1950) com estudos "in vitro" mostrando que a adrenalina interfere com a recaptação da glicose estimulada pela insulina em músculo isolado. Para observar se isto também ocorria "in vivo", SACCA et alii (1979 a) infundiram doses fisiológicas de insulina ($0,7 \text{ mU.Kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$) em cães normais com e sem a simultânea adição de adrenalina ($0,1 \text{ } \mu\text{g.Kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$). A adrenalina preveniu totalmente a queda da glicose induzida pela insulina no primeiro instante do estudo (o nível da glicemia diminuiu cerca de 50% durante a infusão somente com insulina). Concluiu-se que a adrenalina aboliu a rápida queda na produção de glicose hepática produzida pela insulina. Mais importante, a aceleração da recaptação de glicose induzida por insulina foi marcadamente atenuada. Apesar de uma elevação similar na concentração da insulina plasmática ($\approx 50\text{-}60 \text{ } \mu\text{U/mL}$) e da elevada glicemia no grupo tratado com adrenalina a recaptação da glicose foi reduzida em 50%. Posteriormente, DIERBET & DE FRONZO (1980) observaram efeito semelhante em humanos.

Esses dados sugerem que a adrenalina antagoniza a insulina em dois sítios de ação, isto é, o periférico e o hepático. Então, o potente efeito antinsulínico da adrenalina, "in vivo", pode ser explicado pela capacidade em interferir com a ação e a secreção da insulina (SHERWIN & SACCA, 1984).

BREAD et alii (1982) observaram que a administração aguda de adrenalina inibe a insulina basal e a insulina estimulada pela glicose através de um mecanismo alfa adrenérgico. Este efeito inibitório imediato na função da célula beta contribui para a hiperglicemia observada durante o estado de stress, como no infarto agudo do miocárdio e durante cirurgia. Contudo, durante um período maior de administração da adrenalina ou durante um estado de stress mais persistente, os níveis circulatórios de insulina retornam ao normal, ou pode ser elevado, apesar da continuada não responsividade para glicemia.

As ações hiperglicêmicas da adrenalina são particularmente observadas quando a glicose exógena é administrada. Em humanos o teste de tolerância à glicose mostra ser um excelente sensor para pequenas mudanças na adrenalina circulante (HAMBURG et alii, 1980). O aumento na concentração de adrenalina causa intolerância à glicose. Esses dados sugerem que o efeito inibitório da adrenalina na ação da insulina pode ser mais crítico, ocorrendo um efeito supressor na secreção de insulina durante a administração de glicose exógena (SHERWIN & SACCA, 1984).

CRYER (1984) comenta que as catecolaminas modificam a secreção de uma variedade de hormônios. A adrenalina é conhecida como inibidor da secreção de insulina, ainda que os níveis de insulina plasmática aumentem durante a hiperglicemia induzida pela adrenalina. HALTER et alii (1984) argumentam que a adrenalina limita a secreção de insulina, isto é, durante elevação do nível de adrenalina plasmática a secreção de insulina é menor em comparação com a hiperglicemia na ausência de adrenalina elevada.

VRANIC et alii (1984) estudaram a resposta das catecolaminas em interações com outros hormônios glicorreguladores em cães normais e diabéticos aloxânicos. Podemos verificar conforme tabela 2.2.4 que a hiperglicemia induzida em cães normais foi menor que a hiperglicemia em cães diabéticos. Quando a adrenalina foi administrada juntamente com a somatostatina, a hiperglicemia nos cães diabéticos foi menor que durante administração da adrenalina (sozinha); porém quando a adrenalina foi administrada com a somatostatina mais glucagon (em cães diabéticos) a hiperglicemia voltou a aumentar - semelhante ao que ocorre com adrenalina sozinha. Deste experimento podemos concluir que : (a) a hiperglicemia induzida pela adrenalina é potencializada no diabetes; (b) o glucagon potencializa a hiperglicemia induzida pela adrenalina; (c) a insulina responde a hiperglicemia, porém a adrenalina interfere na sua ação. Constam na tabela ainda dados sobre produção de glicose endógena e depuração da glicose.

Tabela 2.2.4 - Respostas da adrenalina em interações com outros hormônios: (↑) aumento; (↑_{trans}) aumento transitório; (↓) diminuição; (↔) não modificado. Adaptado de VRANIC et alii (1984).

INFUSÃO	GLICO PLASM.	INSULINA	GLUCAGON	ADRENA.	PROD. ENDOG. GLICO	DEPUR. GLICO.
<u>Cães normais</u>						
Sb adrenalina	↑	↑ _{TRANS}	↑ _{TRANS}	↑↑	↑	↓
Adrenalina + Somatostatina	↑	↑ _{TRANS}	↓↓	↑↑	↑	↓
<u>Cães diabéticos aloxânicos</u>						
Sb adrenalina	↑↑↑	↑	↑↑↑	↑↑	↑↑	↔
Adrenalina + Somatostatina	↑	↔	↓	↑↑	↑	↔
Adrenalina + Somatostatina + Glucagon	↑↑↑	↔	↑↑↑	↑↑	↑↑	↔

Os indivíduos normais propensos em desenvolver intolerância à glicose, durante trauma, doença ou stress, têm uma grande sensibilidade do seu mecanismo glicorregulatório à elevação do nível de adrenalina circulante. Segundo CHERRINGTON et alii, (1984) na maioria dos casos extremos, como no choque hemorrágico, o nível de adrenalina plasmática pode aumentar até 100 vezes.

É bem estabelecido que níveis fisiológicos de adrenalina aumentam a glicose sanguínea (CHERRINGTON et alii, 1976), mas tem sido difícil quantificar esta resposta porque, em muitas ocasiões observou-se um aumento (RIZZA et alii, 1979b; WOODSON et alii, 1980; GERICH et alii, 1976; KEMMER et alii, 1982) ou queda (SACCA et alii, 1978b; SACCA et alii, 1979b) na secreção de glucagon e/ou um aumento na insulina (RIZZA et alii, 1979b; CLUTTER et alii, 1980; WOODSON et alii, 1980; SACCA et alii, 1979c; SACCA et alii, 1978b; MULLER et alii, 1977; GRAY et alii, 1980).

Assim, a ação isolada da adrenalina na liberação da glicose hepática, "in vivo", somente pode ser quantificada, exatamente, se as concentrações de insulina e glucagon plasmáticos forem fixadas em níveis basais (STEVENSON et alii, 1987).

3 - DIABETES MELLITUS E CATECOLAMINAS

O diabetes mellitus é uma doença crônica que afeta o metabolismo dos carboidratos, gorduras e proteínas. Uma das causas é a diminuição dos índices de secreção de insulina pelas células beta do pâncreas. Essa resposta secretória deficiente de insulina se traduz pela alteração na utilização de carboidratos (glicose) e, constitui a característica típica do diabetes, como também a hiperglicemia resultante (ROBBINS et alii, 1986; GUYTON, 1989; COELHO, 1990).

A terminologia usada para classificar o diabetes no passado levou a alguma confusão e falta de uniformidade nos relatos da literatura. Na tentativa de unificar essas diferenças BENNETT (1983) desenvolveu uma classificação incorporando todas as informações válidas. Nesse sistema de classificação o diabetes mellitus apresenta-se em dois tipos principais: tipo I, também conhecido como diabetes mellitus insulino dependente (IDDM) e, tipo II, conhecido como diabetes mellitus insulino independente (NIDDM). Recentemente, STEFFES (1990) propôs que a resistência à insulina fosse, provavelmente, do tipo II.

A fisiopatologia do diabetes mellitus pode ser atribuída a um dos três principais efeitos da falta de insulina e, incluem: (1) diminuição da utilização da glicose pelas células do organismo, com uma conseqüente elevação da concentração da glicose sanguínea para níveis de 300 a 1.200 mg/dL; (2) um aumento acentuado da mobilização das gorduras contidas em áreas de armazenamento, ocasionando metabolismo anormal das gorduras, bem como a deposição de lipídeos nas paredes dos vasos, causadora de aterosclerose e, (3) diminuição de proteína nos tecidos do organismo. Além disso, ocorrem também outros problemas fisiopatológicos específicos como: perda de glicose pela urina, efeito desidratante da glicemia elevada e, acidose metabólica. Esse último, em decorrência da alternância do metabolismo dos carboidratos para o metabolismo lipídico (GUYTON, 1989; OSIE, 1990; ROBBINS et alii, 1986).

O paciente diabético tem comumente uma relativa ou absoluta falta de insulina ou uma função inadequada da mesma, eles são incapazes de utilizar a glicose adequadamente. Além disso, a redução na insulina causa glicogenólise que normalmente é inibida pela insulina. Esses desarranjos levam à hiperglicemia. Ácidos graxos são mobilizados dos depósitos e passam à constituir a principal fonte de energia. Na IDDM, e menos na NIDDM, a oxidação de ácidos graxos à corpos cetônicos no fígado vai exceder a taxa da sua utilização e pode resultar em acidose metabólica. Por outro lado, desde que o tecido corporal necessite de glicose, as proteínas, tanto da dieta como dos tecidos, são utilizadas para a gliconeogênese. Assim, processos anabólicos importantes como a síntese do glicogênio, triglicerídeos e proteínas são sacrificados pelos processos catabólicos como glicogenólise, gliconeogênese e a mobilização de gorduras (MURRAY et alii, 1990; OSIE, 1990; ROBBINS et alii, 1986; ARAUJO, 1989).

O diabetes mellitus experimental pode ser conseguido em animais através de drogas como, aloxana e estreptozocina. Essas drogas destroem de modo bastante seletivo as células beta do pâncreas, produtoras de insulina (GOODMAN & GILMAN, 1987). Tanto a aloxana como a estreptozocina podem agir rompendo os feixes de DNA das células beta. A aloxana parece fazer isso em consequência da produção de radicais livres, enquanto a estreptozocina age alquilando as bases do DNA (UCHIGATA et alii, 1983). Mostrou-se também que a aloxana inativa uma cinase protéica dependente de Ca^{++} e calmodulina, cuja atividade está relacionada à secreção de insulina (COLCA et alii, 1983 a e b).

Vários exames laboratoriais podem ser realizados para diagnosticar o diabetes mellitus. Esses exames se baseiam no fato de que os pacientes diabéticos são incapazes de neutralizar, de um modo adequado, uma carga de glicose. Um exame aceitável para triagem do diabético é a determinação da glicemia em jejum (8 a 12 horas). Na presença de elevação da glicose sanguínea, acima de 110 mg/dL, suspeita-se de diabetes (LIMA et alii, 1985; MOURA, 1982; JUSTINO, 1988).

Um exame mais preciso é o teste de tolerância à glicose (TTG). Este teste consiste em se administrar, via oral, uma sobrecarga de (geralmente 1,75 g/Kg) glicose e posterior determinação hora a hora da glicose sanguínea durante três horas após a ingestão. Uma curva glicêmica padrão consiste em se determinar a glicemia em jejum (tempo 0), subsequente ingestão de uma sobrecarga de glicose, e determinações da glicemia 30, 60, 120, e 180 minutos após. Geralmente admite-se que uma curva deva se realizar numa velocidade tal que a taxa de glicose sanguínea não exceda o limite renal. Assim, o pico deve ser alcançado em uma hora e não deve exceder 160 a 170 mg/dL, voltar ao normal dentro de 120 minutos e podendo cair abaixo da taxa de jejum dentro de 180 minutos. No indivíduo normal observa-se uma elevação passageira dos níveis de glicose que, em seguida, voltam ao normal dentro de duas horas após a sobrecarga. No diabético, o nível elevado de glicose prolonga-se e demora a voltar aos níveis basais, conforme pode ser observado na figura 2.3.1 (LIMA et alii, 1985).

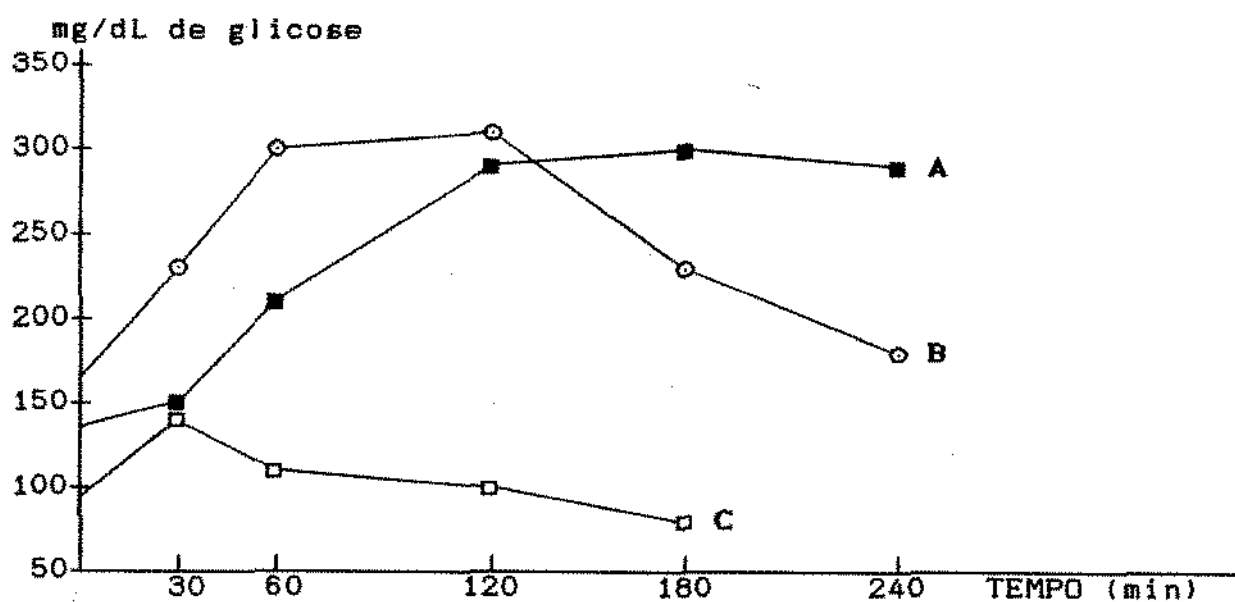


Figura 2.3.1 - Prova de tolerância à glicose. Curvas diabéticas (A-■ e B-○) e curva normal (C-□). Adaptado de LIMA et alii (1985).

A literatura existente sobre a determinação da glicose sanguínea é numerosa. Desde as pesquisas iniciais de FOLIN & WU em 1920 e até o presente, muitos métodos para determinação da glicose sanguínea foram desenvolvidos mas em seguida, foram substituídos por outros de maior precisão. Muitos dos métodos tradicionais foram adaptados para métodos automatizados. No presente, parte dessa tecnologia usada pelos laboratórios está chegando ao paciente diabético. MAZZE (1990) preve que com a proximidade do século XXI os pacientes diabéticos terão maior responsabilidade no controle da taxa glicêmica, já que eles vão ter acesso à mesma tecnologia usada pelo laboratório clínico.

Isto já vem acontecendo há duas décadas, com a introdução da glicose sanguínea capilar monitorizada, como parte de um controle que o próprio paciente realiza. Esta revolução no teste feito pela própria pessoa (automonitoramento), marcou a primeira tentativa séria de se transferir a tecnologia complexa, apenas limitada ao laboratório, para o paciente. Desde sua introdução, o automonitoramento da glicose tem sido associado a novas medidas tecnológicas para laboratórios e em pacientes ambulatoriais e hospitalizados (MAZZE, 1990).

Um aparelho disponível, para o automonitoramento da glicose sanguínea, é o Reflolux® II M (Boehringer - GERMANY). Este aparelho, digital, portátil, com memória, permite a determinação da glicemia através de uma tira reagente (Haemo-Glukotest® 20-800 R). A determinação do resultado é simples e rápida, permitindo a determinação da glicemia em dois minutos. O aparelho permite excelente exatidão, com amplo intervalo de medição de 10 a 500 mg/dL.

BRODRICK et alii (1987) comparou dois sistemas para automonitoramento da glicemia. O Glucometer® II (Ames) e Reflolux® II (Boehringer) e concluíram que o potencial de erros é maior com o Glucometer® II do que com o Reflolux® II.

BURRIT et alii (1990) analisaram o desempenho de medidores glicêmicos (Lifescan, Mountain View, Calif.), comparando os resultados obtidos com determinações laboratoriais em analisador de glicose Beckman Astra-8® (Beckman Instruments, Brea, Calif.). Após observarem o desempenho dos aparelhos num período de quatro anos (1986 a 1989) os autores defendem o uso dos mesmos, argumentando que os resultados obtidos foram satisfatórios.

O papel potencial das catecolaminas em inúmeras doenças humanas tem sido estudado ao longo dos anos. Entre essas doenças o diabetes mellitus tem merecido certo destaque, especialmente pelo fato das catecolaminas desenvolverem alterações metabólicas similares àquelas observadas em pacientes diabéticos.

CHRISTENSEN (1979) em seu extenso trabalho de revisão sobre catecolaminas e diabetes mellitus, argumenta que a mudança metabólica observada em pacientes diabéticos não tratados. São, em muitos aspectos, semelhantes aquelas produzidas pela infusão de catecolaminas e incluem: hiperglicemia, diminuição da tolerância à glicose, elevação de ácidos graxos e corpos cetônicos no plasma, e redução da resposta da insulina para a glicose.

CHRISTENSEN (1970) verificou que a concentração de catecolaminas plasmáticas é elevada em diabéticos juvenis não tratados. Após tratamento com insulina, o valor das catecolaminas em repouso e durante exercícios foram similares aos obtidos nos controles, conforme pode ser observado na figura 2.3.2.

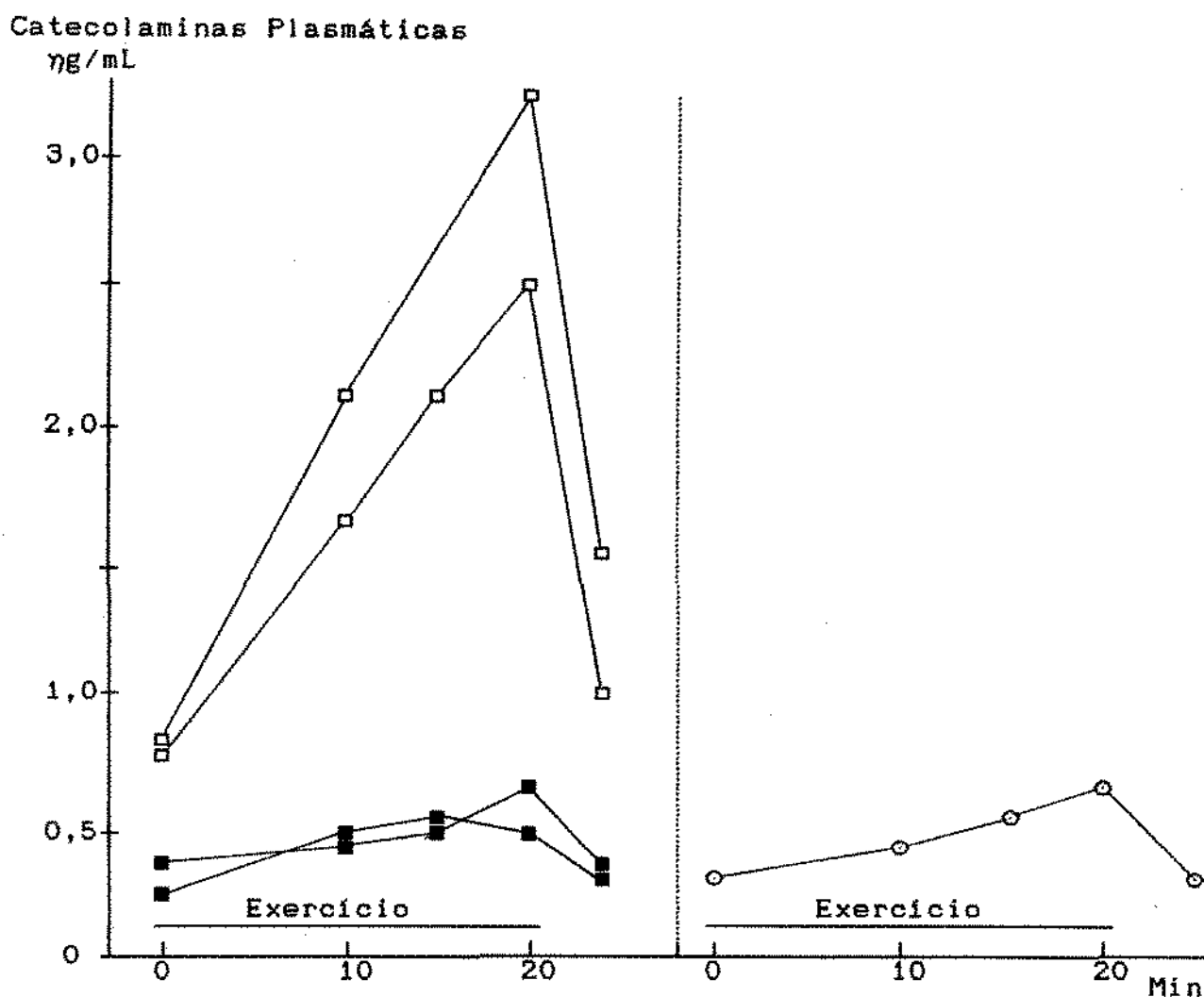


Figura 2.3.2 - Catecolaminas plasmáticas em indivíduos em repouso, durante, e após exercícios. À esquerda: 2 diabéticos, □-□-□-□ não tratados, ■-■-■-■ tratados. À direita: valores de 5 controles. Adaptado de CHRISTENSEN (1970).

Em alguns estudos realizados por CARLOSTRÖM (1967 e 1969) mostraram que exercícios induziam maior mobilização lipídica em diabéticos juvenis não tratados em comparação com indivíduos normais.

As concentrações de ácidos graxos foram normalizadas após tratamento com insulina, enquanto o glicérol plasmático foi quase normalizado. HANSEN (1971) mostrou que também ocorria um maior aumento no hormônio do crescimento durante exercícios em diabéticos juvenis não tratados com insulina o qual, após o tratamento, foi normalizado. As duas situações, indução da mobilização lipídica e o aumento do hormônio do crescimento plasmático, são provavelmente mediados através do sistema nervoso simpático.

A captação da glicose é aumentada durante exercícios musculares por um mecanismo insulino independente pois durante exercícios há necessidade da mobilização de nutrientes para os tecidos periféricos, bem como o aumento da glicogenólise. Um decréscimo na secreção de insulina é entretanto apropriado. As evidências indicam que a supressão da secreção de insulina durante exercícios é em parte devido a uma elevação do tônus simpático (noradrenalina) e uma elevação nas concentrações plasmáticas de adrenalina (GALBO et alii, 1977).

Vários trabalhos mostram que infusão de catecolaminas em humanos inibe a secreção de insulina estimulada pela glicose. Uma infusão intravenosa de adrenalina em humanos, em jejum, é seguida de uma pequena diminuição na insulina que, logo após, tem sua concentração aumentada, acompanhando a elevação da glicose sanguínea e a concentração de ácidos graxos livres. Entretanto, a secreção de insulina estimulada pela glicose é grandemente atenuada (ROBERTSON & POTER, 1973).

Nos indivíduos normais a insulina desempenha importante papel na alternância metabólica entre o metabolismo dos carboidratos e ácidos graxos. O sinal que controla essa alternância é a glicemia. Assim, na hipoglicemia a insulina é suprimida, conseqüentemente os ácidos graxos são utilizados pela maioria dos tecidos, exceto tecido cerebral. Na hiperglicemia, a secreção de insulina é estimulada e os carboidratos são utilizados em lugar dos ácidos graxos (GUYTON, 1989).

Isto ocorre porque a insulina inibe a ação da lipase hormônio-sensível, enzima que hidrolisa triglicerídeos nas células adiposas. Assim a liberação de ácidos graxos no plasma é inibida. No diabético, a falta ou deficiência na ação da insulina provoca um aumento de ácidos graxos no sangue (ROBBINS et alii, 1986; GUYTON, 1989).

A inibição da secreção de insulina durante infusão com catecolaminas, não é a responsável primária na mobilização de nutrientes, mas a concentração de ácidos graxos livres e glicose sanguínea não pode ser elevada no mesmo intervalo de tempo sem uma inibição parcial da secreção de insulina (CHRISTENSEN, 1979).

As mudanças metabólicas observadas em pacientes com diabetes mellitus não tratados, são similares aquelas produzidas pela infusão de catecolaminas. A secreção de insulina, estimulada por glicose, é reduzida em ambas condições, entretanto, observa-se diferenças. Enquanto os pacientes diabéticos juvenis tem os valores de insulina reduzidos ou normais, em comparação com os controles, a secreção de insulina basal é elevada durante uma infusão prolongada de catecolaminas (CHRISTENSEN, 1979; ROBERTSON & POTER, 1973). Assim, a deficiência de insulina em diabéticos não demonstra ser causada pelas catecolaminas.

Em situações de stress, onde o nível das catecolaminas plasmáticas está geralmente aumentado, como: infarto agudo do miocárdio, queimaduras, hipotermia profunda e em pacientes submetidos à cirurgia, ocorre hiperglicemia, com prejuízo da tolerância à glicose, e uma elevação de ácidos graxos livres. Nessas situações a concentração de insulina está elevada, mas inapropriadamente inferior em relação à concentração da glicose sanguínea (CHRISTENSEN, 1979).

Em pacientes com diabetes mellitus, as situações de stress podem agravar seriamente o estado metabólico. Infecções, em particular, são bem conhecidas como causas predisponentes de cetoacidose. Em pacientes diabéticos pobremente controlados, o tônus do sistema nervoso autônomo está geralmente aumentado e, embora a elevação do nível de catecolaminas plasmáticas possa agravar o estado metabólico, elas provavelmente são importantes na manutenção de funções vitais de pacientes seriamente doentes (CHRISTENSEN, 1979).

BERK et alii (1985) estudaram a influência da adrenalina no metabolismo da glicose. Comparando a hiperglicemia provocada pela adrenalina em indivíduos normais com diabéticos tipo I. Observaram que : a hiperglicemia induzida pela adrenalina era maior nos diabéticos do que em indivíduos normais concluindo que a secreção de insulina limita a resposta da glicemia, mas não a resposta lipolítica ou cetogênica para a adrenalina em humanos.

Vários autores têm demonstrado a resposta das catecolaminas em interações com outros hormônios e as suas implicações no diabetes mellitus. KEMMER et alii (1982) estudaram a resposta das catecolaminas em interações com o glucagon em cães cujo pâncreas foram removidos, como mostra a figura 2.3.3. Observaram um rápido aumento inicial na produção de glicose hepática com uma gradual e subsequente diminuição. Entretanto, a produção de glicose não retornou para valores basais durante a infusão com adrenalina. Também observaram um grande e sustentado aumento nos níveis de glicose plasmática como resposta a adrenalina. Quando a somatostatina foi administrada junto com adrenalina, observaram somente um aumento marginal na produção de glicose e na glicose plasmática. Quando a hiperglucagonemia foi restaurada, pela interrupção da infusão da somatostatina, o aumento na produção de glicose e glicemia foram restabelecidos. VRANIC et alii (1984) obtiveram resultados semelhantes em cães diabéticos aloxânicos, como mostra a figura 2.2.6.

Glicose Plasmática

mg/dL

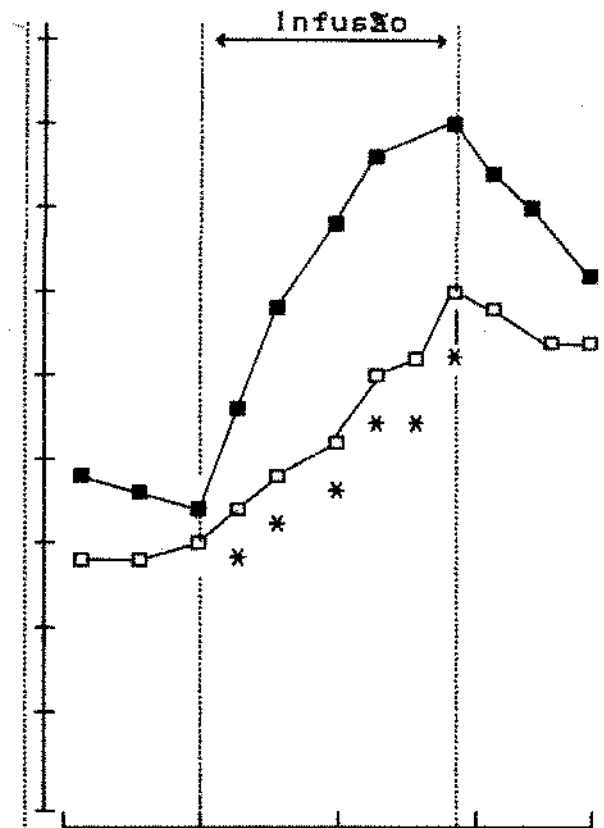
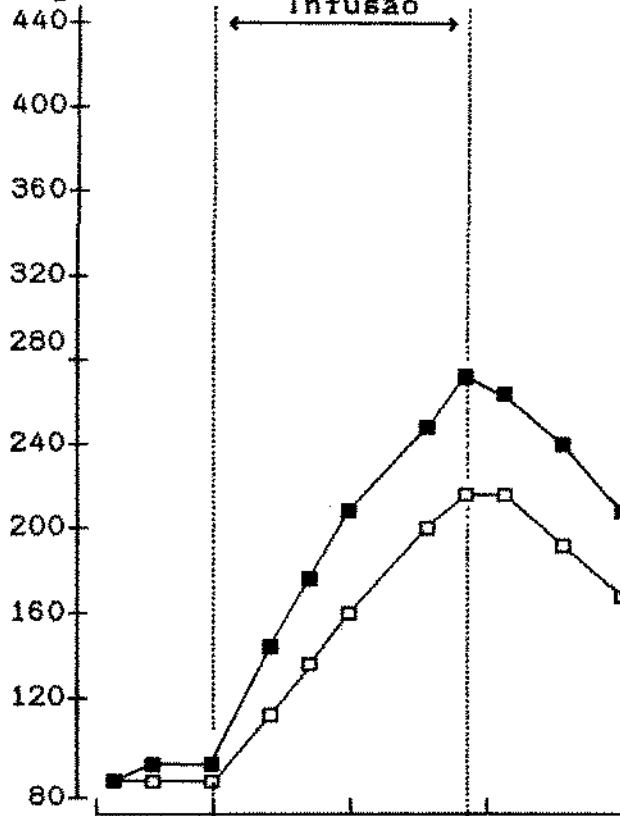
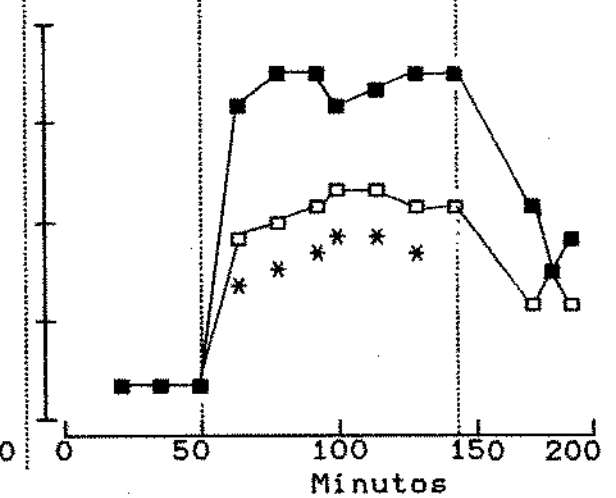
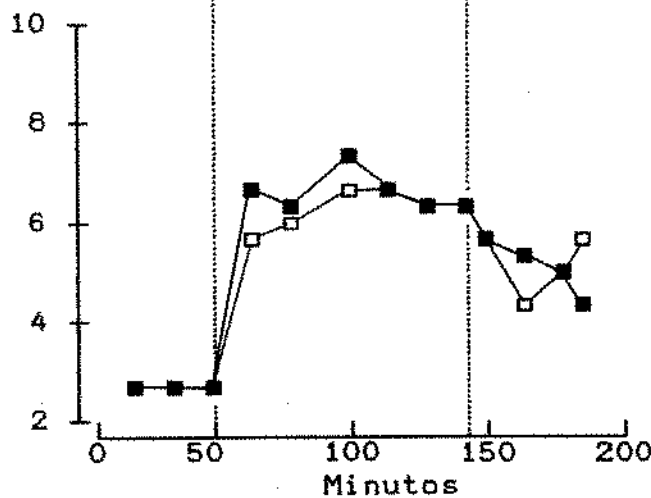
Produção de Glicose
mg/Kg.min

Figura 2.3.3 - Influência da adrenalina e do glucagon na produção de glicose e glicemia em cães diabéticos. Painel da esquerda: Infusão de adrenalina (A) (■—■, A, $0.1\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) e Adrenalina mais Somatostatina (A+ST) (□—□, A+ST, $0.1\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) em 6 cães cujos pâncreas foram removidos, mas se apresentavam com glicemia controlada (normoglicemia). Painel da direita: a mesma infusão em 6 cães em situação de hiperglicemia. (*) diferenças significantes em resposta A ou A+ST. Adaptado de KEMMER et alii (1982).

CAPÍTULO III

PROPOSIÇÃO

O presente trabalho tem por objetivo:

Avaliar os efeitos de soluções anestésicas locais, com diferentes vasoconstritores associados, sobre a glicemia de ratos normais e diabéticos aloxânicos.

CAPÍTULO IV

MATERIAIS E MÉTODOS

1 - SELEÇÃO DOS ANIMAIS

Foram utilizados para o presente trabalho 80 ratos (Rattus novergicus albino, linhagem Wistar heterogenética), machos, com aproximadamente dois meses de idade, pesando entre 200 a 300 gramas, procedentes do Biotério Central da UNICAMP (ratos mantidos sob barreira de qualidade sanitária spf ****).

Durante o período de adaptação (uma semana) e na fase experimental, os animais foram alimentados com ração balanceada padrão¹ e água "ad libitum".

1 - Ração balanceada Labina[®] (Purina) - São Paulo

2 - DROGAS

Bupivacaína 0,5% com adrenalina 1:200.000 - Bupi/Adr. (Neocaína[®] Laboratório CRISTALIA). Composição por tubete (1,8 ml): Cloridrato de bupivacaína - 9 mg; Bitartarato de adrenalina - 9 µg.

Lidocaína 2% com noradrenalina 1:50.000 - Lido/NAdr. (Xylocaína[®] - Laboratório MERREL-LEPETIT). Composição por tubete (1,8 ml): Cloridrato de lidocaína - 36 mg; Noradrenalina cristalizada - 0,036 mg.

Alloxan[®] (5,6-Dioxyuracil)monohidrato (SIGMA - A-8128).

Insulina NPH bovina e suína purificada (IOLIN[®] - BIOBRAS).

Solução fisiológica 0,9% (p/v).

D-Glicose (C₆H₁₂O₆.H₂O) - (Dextrosol[®] - Refinações de milho Brasil Ltda).

Pentobarbital sódico (NEMBUTAL[®] - Laboratório ABBOTT).

3 - INDUÇÃO DO DIABETES

A indução do diabetes com aloxana foi realizada segundo os trabalhos de VEIGA et al. (1989) e WOODSON & POTTER (1979). Consistiu na administração intraperitoneal de uma dose de 150 mg/Kg de aloxana em solução fisiológica (p/v) e em volume não superior a 0,5 ml. Nesta solução foram acrescentadas 1 a 2 gotas de HCl 0,1 N para ajustar o pH em torno de 5. A injeção era realizada após os ratos permanecerem em jejum de 24 horas.

Em seguida à injeção de aloxana, a alimentação era restituída aos animais. Para prevenir eventuais hipoglicemias, foi colocada à disposição dos animais uma solução de glicose a 5% durante as 24 horas subsequentes.

Dois dias após a administração da aloxana, a concentração da glicose foi determinada em amostras de sangue obtidas de cortes transversais na cauda. Animais com glicemia igual ou superior a 250 mg/dL foram considerados diabéticos. Nesses animais a ração foi padronizada em 15 g diárias por animal. Em seguida foram administradas doses diárias de uma unidade de insulina, no final da tarde, por um período não inferior a quatro dias antes de iniciar o experimento. Animais com glicemia entre 150 e 350 mg/dL, com 12 horas de jejum foram selecionados para uso. Para animais cuja glicemia não se apresentava próxima a esses valores, doses de insulina foram individualizadas para se obter o grau de controle desejável para os experimentos serem realizados em dias subsequentes, num período não superior à 10 dias da administração da aloxana.

Adicionalmente, quando da primeira determinação da glicemia esta se apresentava em níveis acima de 500 mg/dl, foram administrados duas unidades de insulina.

4 - PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

4.1 - CURVAS GLICÊMICAS EM RATOS SEDADOS E NÃO SEDADOS

Foram utilizados 20 animais, divididos em dois grupos de dez ratos cada.

Num grupo foi administrado intraperitonealmente dextrosol na concentração de 1,75 g/Kg, a partir de uma solução de 0,25 g/mL (p/v) em água destilada, num volume não superior a 2 mL.

No outro grupo foi administrado intraperitonealmente dextrosol, dose igual ao grupo anterior, porém precedida pela administração de pentobarbital sódico, 30 mg/Kg, 15 minutos antes da administração do dextrosol.

Assim, foram realizadas curvas glicêmicas em animais sedados e não sedados.

4.2 - SOLUÇÕES ANESTÉSICAS E CONTROLES

Os procedimentos experimentais empregados para se determinar a glicemia frente às soluções anestésicas locais com diferentes vasoconstritores associados e controles, tanto para os ratos normais, quanto para os ratos diabéticos aloxânicos, constou de injeções submucosas na região posterior da maxila dos animais, sendo a dose equivalente a contida em 10 tubetes para humanos com 70 Kg, administradas após 12 horas de jejum. Esses dois grupos experimentais foram subdivididos em três subgrupos com 10 ratos cada, onde administrou-se: Bupivacaína 0,5% com adrenalina (90 μ g/Kg); Lidocaína 2% com noradrenalina (360 μ g/Kg); e um grupo controle com administração de solução fisiológica 0,9% (p/v).

5 - COLHEITA DAS AMOSTRAS

As amostras de sangue foram colhidas através de corte transversal da cauda dos animais, com tesoura, e em seguida amarrados para estancar a hemorragia.

Para se atenuar o stress, os animais foram sedados com pentobarbital sódico 30 mg/Kg, administrado intraperitonealmente, 15 minutos antes da obtenção das amostras.

As colheitas foram realizadas segundo a técnica para se determinar a Curva Glicêmica (LIMA et alii, 1985), com colheitas realizadas: tempo 0, antes da administração das drogas, tempo 30, 60, 120 e 180 minutos após administração das drogas. Para os ratos diabéticos coletou-se mais uma amostra aos 240 minutos.

6 - DETERMINAÇÃO DA GLICEMIA

Para determinação da glicemia foi utilizado o sistema Haemo-glukotest® 20-800 R (Boehringer - GERMANY). As leituras foram realizadas em aparelho Reflolux® II M.

A determinação é realizada da seguinte forma:

1 - Introduz-se a tira de código na ranhura que está localizada à esquerda do visor.

2 - Aperta-se a tecla ON/OFF. No visor aparece:

code	: : : : :
------	-----------

3 - Passa-se a tira código lenta e uniformemente (aprox. 1/2 seg.) pela ranhura.

E produzido um sinal sonoro e aparece no visor:

[[[

4 - Introduz-se, então, uma tira não utilizada de Haemo-glukotest® 20-800 R na entrada de tiras com as áreas de teste opostas à tecla ON/OFF.

5 - Aperta-se a tecla TIME até ouvir um sinal sonoro.

No visor aparece:

888

 e, em segui

da, o número do código da tira.

6 - Coloca-se uma gota de sangue necessária para cobrir completamente as duas áreas da tira reagente e aciona-se imediatamente a tecla TIME.

7 - Próximo aos 60 segundos o aparelho começa emitir sinal sonoro. Ao ouvir o último sinal sonoro (60 segundos), limpa-se com algodão seco o sangue sobre a tira reagente.

8 - A tira reagente é introduzida, com o sangue removido, na entrada de tiras do aparelho com as áreas de teste dirigidas em direção a tecla ON/OFF.

9 - Deixa-se a tira reagente nesta posição até que apareça o resultado.

Após o sinal sonoro (120 segundos), o valor da glicemia em mg/dL aparece no visor.

10 - Para obtenção de resultados confiáveis devem ser observadas as instruções:

CORRETO: Ideal - Gota farta de sangue cobrindo as duas áreas de teste.

INCORRETO: Gota de sangue espalhada, cores não uniformes.

Manchas de sangue nas áreas de teste, devido a limpeza incorreta, tornando a leitura impossível. Nesses casos o aparelho não emite o resultado.

11 - Os resultados obtidos são armazenados automaticamente na memória, que podem ser chamados no visor apertando a tecla RCL.

12 - A memória tem capacidade de armazenar 30 resultados.

Ao passar a capacidade de armazenamento, o valor mais antigo é apagado automaticamente.

13 - O aparelho é independente da rede elétrica e funciona com bateria.

A bateria é inserida no lado inferior do aparelho, com durabilidade para mais de 1.000 determinações.

7 - TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Para fazer a análise estatística dos dados, foi considerada, inicialmente, a homogeneidade de variâncias (homocedasticidade), que foi testada através do teste F-máximo. A seguir, após a constatação de que existe tal homogeneidade, utilizou-se análise de variância (ANOVA), considerando cada rato (animal experimental) como um bloco, que se testou o fator "Tempo" num delineamento de "Blocos ao Acaso". Para testar o efeito das diferentes soluções anestésicas (Bupi/adr, Lido/NAdr e controle) utilizou-se a mesma estrutura de Análise de Variância, através de um delineamento "Inteiramente ao Acaso". Na comparação entre animais sedados e não sedados, utilizou-se também o delineamento da Análise de Variância (ANOVA) "Inteiramente ao acaso".

Todas as comparações individuais foram realizadas pelo teste de TUKEY com um nível de significância de 5%.

CAPÍTULO V

RESULTADOS (*)

1 - COMPARAÇÃO DOS TRATAMENTOS ENTRE ANIMAIS SEDADOS E NÃO SEDADOS

Inicialmente, realizou-se o teste de F-max para constatar se existe a homogeneidade de variâncias (homocedasticidade), que é necessária para a realização de análises de variâncias (ANOVA). Os resultados para animais sedados (F-max = 4,10) e não-sedados (F-max = 3,30) demonstram que existe homocedasticidade, sendo portanto possível a realização de ANOVAS para o estudo dos dados.

Realizando-se a ANOVA com delineamento de "blocos ao acaso", para testarmos o efeito de tempos diferentes sobre os resultados da glicemia, obte-se a tabela 5.1.1. Considerando somente os animais não sedados.

(*) - Todos os resultados obtidos estão contidos em tabelas suplementares no anexo 1.

Tabela 5.1.1 - ANOVA - com dileneamento de "Blocos ao Acaso", para testar animais não-sedados, nos tempos considerados

FONTE DE VARIACÃO	G. L.	QM	F	PROB > F
BLOCO (RATOS)	9	298,089	-	-
TEMPOS	4	6490,650	31,26	0,0001
RESIDUO	36	207,628		
TOTAL	49			

(*) Prob > F = nível de significância exato.

Esta tabela demonstra que existem evidências da presença de diferenças nos tempos considerados pelo experimento, determinando a realização do teste de TUKEY (5%) para as comparações individuais, como pode ser observado na tabela 5.1.2.

Tabela 5.1.2 - Teste de TUKEY (5%) para os resultados com ratos não-sedados.

TEMPO	MÉDIA	GRUPO
30	134,90	A
60	109,60	B
120	87,40	C
180	86,30	C D
0	68,80	D

(*) DMS = 18,5

(**) Letras diferentes indicam diferença estatística.

As comparações pelo teste de TUKEY permitem visualizar o valor máximo da glicemia, que corresponde ao tempo de 30 minutos; demonstra também que o tempo 0 não difere do tempo 180; o tempo 180 difere dos tempos 60 e 30, e que o tempo 30 difere do tempo 60. O gráfico na figura 5.1.1 a seguir ilustra estas posições :

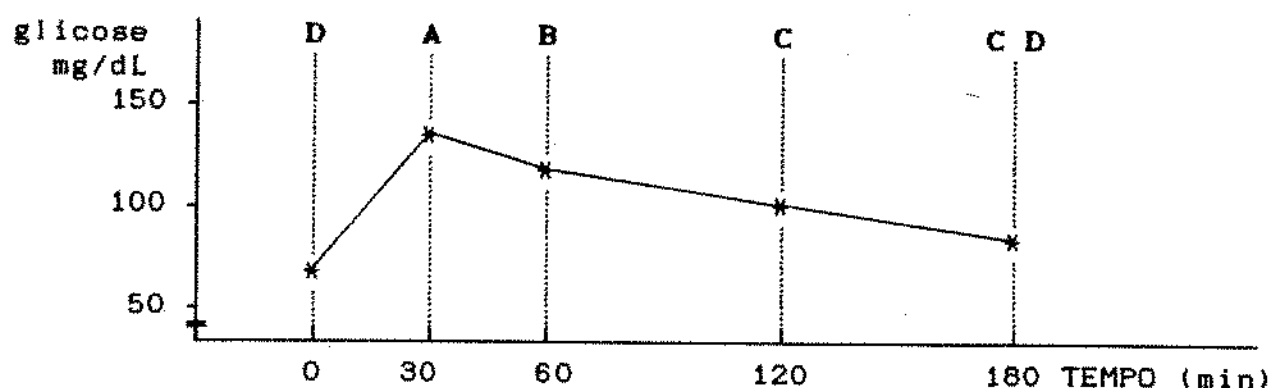


Figura 5.1.1 - Média dos dados para animais não-sedados. Letras (A B C D) representam grupos obtidos pelo teste de TUKEY nível 5%.

Realizando os mesmos procedimentos estatísticos para os animais sedados, teremos a seguinte tabela de ANOVA e do teste de TUKEY, conforme tabela 5.1.3 e 5.1.4.

Tabela 5.1.3 - ANOVA - com dileneamento de "Blocos ao Acaso", para testar o efeito de diferentes tempos sobre glicemia de animais sedados.

FONTE DE VARIAÇÃO	G. L.	QM	F	PROB > F
BLOCO (RATOS)	9	259,502	-	-
TEMPOS	4	8647,930	40,35	0,0001
RESIDUO	36	214,319		
TOTAL	49			

Aqui também é demonstrado haver diferenças entre os tempos considerados, necessitando realizar comparações de médias, pelo teste de TUKEY, como se segue:

Tabela 5.1.4 - teste de TUKEY (5%) para comparação de animais sedados, considerando os TEMPOS diferentes.

TEMPO	MÉDIA	GRUPO
30	142,000	A
60	94,400	B
0	76,800	B C
180	73,500	C
120	72,500	C

(*) DMS = 18,796

(*) Letras diferentes implicam em diferença estatística.

Aqui os resultados demonstram que o tempo 30 difere de todos os outros, sendo o de maior nível de glicose no sangue, em relação aos outros tempos considerados. O tempo 0 não difere dos outros tempos considerados, com exceção do tempo 30. O tempo 60 não difere do 0 e o tempo 180 não difere do 120, o tempo 120 difere do 60.

O gráfico (Figura 5.1.2) ilustra a glicemia, nos tempos considerados.

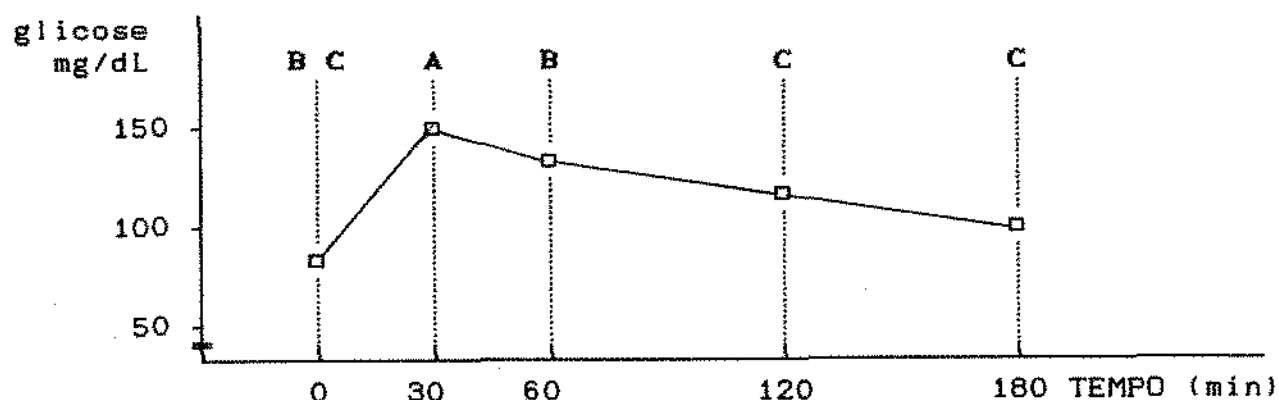


Figura 5.1.2 - Médias de glicemia para animais sedados. As letras (A B C) indicam os grupos obtidos pelo teste de TUKEY (5%).

Para a comparação entre os animais sedado e não-sedados, em cada tempo isoladamente, realizou-se o teste de TUKEY (5%). Os resultados obtidos estão na Tabela 5.1.5.

Tabela 5.1.5 - Comparação de animais sedados e não sedados, pelo teste de TUKEY (as comparações dos grupos devem ser feitas por linha, pois são comparações 2 a 2).

TEMPOS	SEDADOS		NÃO SEDADOS		DMS
	MÉDIAS	GRUPO	MÉDIAS	GRUPO	
0	76,800	A	68,800	A	15,262
30	142,000	A	134,900	A	15,666
60	94,400	A	109,600	B	12,619
120	72,500	A	87,400	B	10,309
180	73,500	A	86,300	A	15,522

Estes resultados revelam que houve diferença estatística entre os animais sedados e não sedados nos tempos 60 e 120, indicando que os animais sedados têm um retorno mais rápido da glicemia ao nível basal (tempo 0).

Todas as informações foram colocadas num só gráfico, conforme a figura 5.1.3.

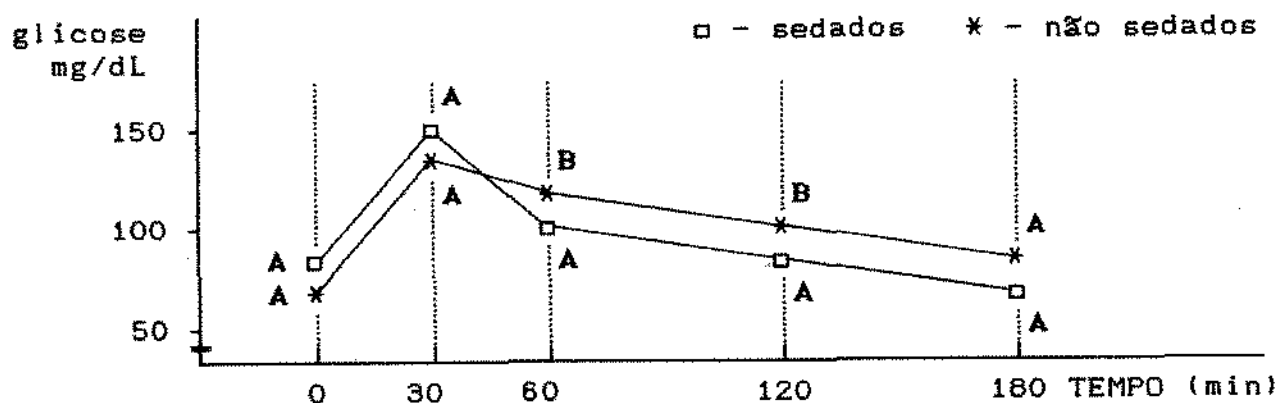


Figura 5.1.3 - Médias dos dados de ratos sedados (□) e não-sedados (*) demonstrando o comportamento analítico dos dois tratamentos. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas.

2 - COMPARAÇÃO DOS TRATAMENTOS EM RATOS NORMAIS

Da mesma forma, que na comparação entre animais sedados e não sedados, foi primeiramente realizado o teste de F-máximo, para a verificação de homocedasticidade dos dados. Os resultados obtidos (ver Tabela 5.2.1) permitem assumir a homogeneidade de variâncias, como um dos pressupostos necessários às comparações por Análise de Variância (ANOVA).

Para comparar as soluções anestésicas locais utilizadas como anestésico, em cada tempo isoladamente, foi realizada uma ANOVA com delineamento "inteiramente ao acaso", sendo feito o teste de TUKEY (5%), para o confronto das médias individualizadas. Portanto, foram obtidas 5 ANOVAS, uma para cada tempo, que são apresentadas na Tabela 5.2.1 :

Tabela 5.2.1 - ANOVAS realizadas para comparar as soluções utilizadas, em cada tempo considerado no experimento, e valores de F-máximo para homogeneidade de variância.

TEMPO	FONTE DE VARIAÇÃO	G. L.	Q.M.	F	PROB > F	F-máx.
0	SOLUÇÕES	2	101,033	1,14	0,3336	3,34
	RESIDUO	27	88,334			
30	SOLUÇÕES	2	110,800	1,11	0,3447	3,85
	RESIDUO	27	99,970			
60	SOLUÇÕES	2	642,633	8,69	0,0012	2,98
	RESIDUO	27	73,948			
120	SOLUÇÕES	2	94,800	0,86	0,4352	3,86
	RESIDUO	27	110,485			
180	SOLUÇÕES	2	154,233	2,63	0,0902	1,93
	RESIDUO	27	58,555			

(*) - O valor correspondente ao "TOTAL" da ANOVA foi omitido nesta tabela, por ser a adição da soma de quadrados referente a SOLUÇÕES e RESIDUO.

(**) - O valor crítico para F-máximo (5%) foi 7,48.

Nota-se que existe diferença estatisticamente significativas entre as soluções utilizadas, somente no tempo 60. Assim, procedendo ao teste de TUKEY (5%), para compararação das médias da glicemia nos grupos de tratamentos (soluções), somente para tempo citado acima, temos a seguinte diferenciação, conforme a Tabela 5.2.2.

Tabela 5.2.2 - Teste de TUKEY para o tempo 60.

SOLUÇÕES	MÉDIAS	GRUPO
Bupi/Adr	85,20	A
Lido/NAdr	73,90	B
Soro Fisiol.	69,70	B

Pode ser afirmado, com base no teste acima, que a Bupi/Adr induziu um nível mais alto de glicemia, detectável somente no tempo 60. As demais soluções não apresentam uma diferença estatisticamente detectável, neste experimento, sugerindo que a Lido/NAdr teve um efeito semelhante ao do grupo controle, como pode ser visualizado pelo gráfico 5.2.1.

glicose
mg/dL

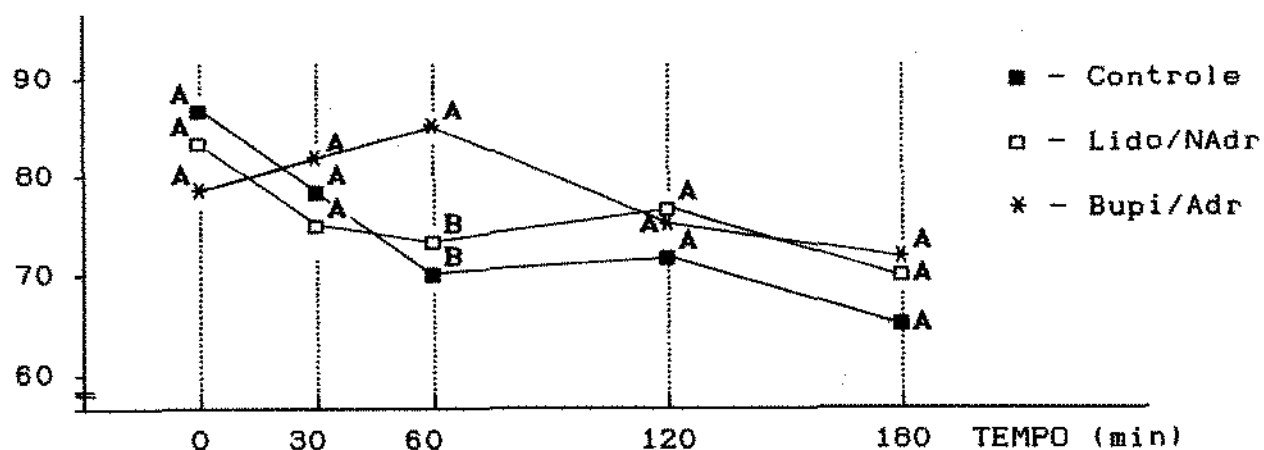


Figura 5.2.1 - Comportamento do nível glicêmico durante o experimento em ratos normais. ■ - Soro Fisiológico; * - Bupi/Adr e □ - Lido/NAdr. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas. (*) DMS: tempo 0 = 10,422; 30 = 11,086; 60 = 9,535; 120 = 11,655 e 180 = 8,485.

Para o estudo dos diferentes tempos, em cada solução anestésica utilizada, efetuou-se o teste de homogeneidade de variância (F-máximo) e após, a Análise de Variância (ANOVA), com um delineamento de "blocos ao acaso", onde cada animal experimental foi considerado como um bloco. Este delineamento considera que cada bloco apresenta informações diferentes utilizando as informações no mesmo bloco (animal).

Os resultados da ANOVA, (Tabela 5.2.3) para Lido/NAdr estão apresentados na tabela abaixo, dado que o resultado do teste de homogeneidade ($F_{\max} = 3,38$) é não significativo, isto é, pode-se assumir que há homogeneidade de variâncias.

Tabela 5.2.3 - ANOVA com delineamento "BLOCOS AO ACASO", para resultados de Lido/NAdr.

FONTE DE VARIACÃO	g. L.	QM	F	PROB > F
BLOCOS (ANIMAIS)	9	322,669	-	-
TEMPOS	4	177,130	2,42	0,0663
RESIDUO	36	73,241		
TOTAL	49			

Apesar do nível de significância ser 6,63% para diferença entre tempos, procedeu-se ao teste de TUKEY (5%), (Tabela 5.2.4), pois é mais sensível (mais preciso) que a ANOVA, a este nível de probabilidade, encontrando os seguintes resultados:

Tabela 5.2.4 - Teste de TUKEY (5%), para os resultados de Lido/NAdr.

TEMPO	MÉDIA	GRUPO
0	82,80	A
120	77,50	A B
30	75,80	A B
60	73,90	A B
180	71,70	B

(*)DMS = 10,988

A única diferença detectada está entre os tempos 0 e 180, indicando que o nível de glicemia inicial é mais alto que o final. O gráfico (Figura 5.2.2) ilustra tais comparações:

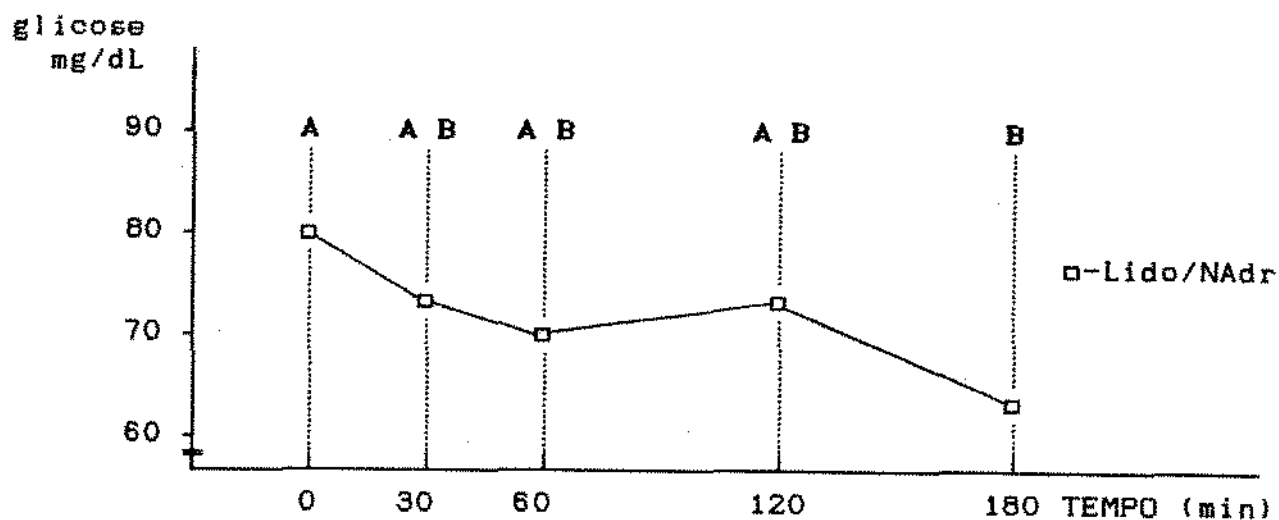


Figura 5.2.2 - Nível glicêmico em diferentes tempos obtidos com administração de Lido/NAdr.

Para os resultados de Bupi/Adr, temos que o F-max é não significante (4,60), havendo homogeneidade de variância. Assim, os resultados da ANOVA com delineamento, igual ao exposto para Lido/NAdr, estão na tabela 5.2.5.

Tabela 5.2.5 - ANOVA com delineamento para resultados com Bupi/Adr.

FONTE DE VARIAÇÃO	G. L.	QM	F	PROB > F
BLOCOS (ANIMAIS)	9	131,467	-	-
TEMPOS	4	271,450	3,99	0,0088
RESIDUO	36	68,028		
TOTAL	49			

Este resultado para o fator tempo, indica que existe pelo menos uma diferença entre os tempos considerados, requerendo a realização de testes de comparação de médias, no caso o teste de TUKEY (5%). Conforme tabela 5.2.6.

Tabela 5.2.6 - Teste de TUKEY (5%), para resultados de Bupi/Adr.

TEMPO	MÉDIA	GRUPO
60	85,20	A
30	82,00	A B
0	78,20	A B
120	75,70	A B
180	71,90	B

(*) DMS = 10,589

Estes resultados demonstram que o tempo 60 difere do tempo 180, sendo esta a única diferença detectada. A seguir o gráfico ilustra o comportamento de glicemia, obtidos com a utilização de Bupi/Adr, conforme figura 5.2.3.

glicose

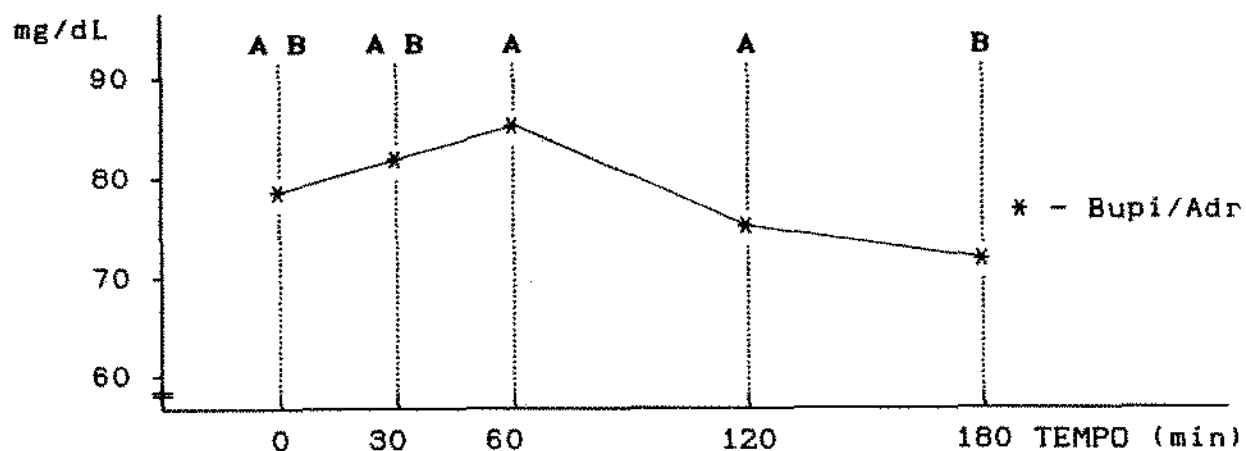


Figura 5.2.3 - Nível glicêmico em diferentes tempos obtidos com administração de Bupi/Adr.

Nota-se que apesar de ter ocorrido um aumento da glicemia, a medida que se aproxima do tempo 60, este acréscimo não é estatisticamente detectável devido à variabilidade do experimento; mas é evidente que o tempo 60 difere do tempo final (tempo 180).

Para os resultados referentes ao grupo controle, seguiu-se os mesmos procedimentos descritos para Lido/NAdr e Bupi/Adr. Assim o resultado obtido para o teste de $F_{\max} = 2,90$, no caso do grupo controle, é não significativo, que constata a homogeneidade de variância. A seguir são apresentados os resultados da ANOVA, com o mesmo delineamento assumido anteriormente, conforme Tabela 5.2.7.

Tabela 5.2.7 - ANOVA com delineamento para grupo controle.

FONTE DE VARIAÇÃO	G. L.	QM	F	PROB > F
BLOCOS (ANIMAIS)	9	102,980	-	-
TEMPOS	4	545,530	12,71	0,0001
RESIDUO	36	42,930		
TOTAL	49			

Em seqüência, dado que existem diferenças detectáveis entre tempos, realizou-se o teste de TUKEY (5%), obtendo-se o seguinte.

Tabela 5.2.8 - Teste de TUKEY(5%) para o grupo controle.

TEMPO	MÉDIA	GRUPO
0	84,30	A
30	76,80	A B
120	71,50	B C
60	69,70	B C
180	65,00	C

(*) DMS = 8,4122

Pode-se notar um maior detalhamento do comportamento dos níveis de glicemia, pois os grupos obtidos caracterizam uma tendência decrescente, com o passar do tempo. Pode-se afirmar que o nível inicial (tempo 0) é maior que o final (tempo 180), havendo também evidências a respeito da diferença entre o tempo 30 e o tempo 180. Há também diferença entre o tempo 0 e o tempo 120. Conforme pode ser observado na Figura 5.2.4.

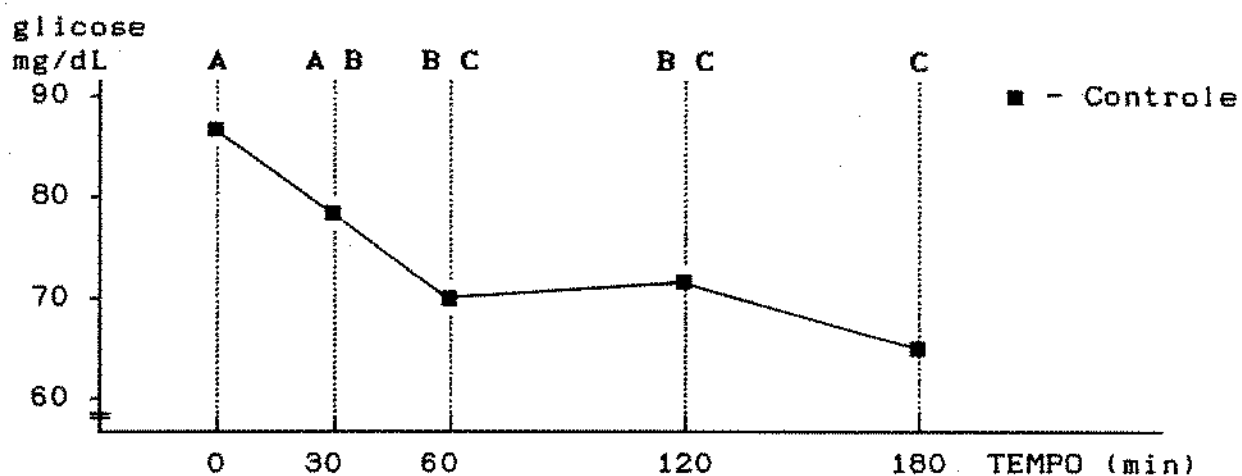


Figura 5.2.4 - Nível glicêmico em diferentes tempos obtidos com a administração de solução fisiológica.

Resumindo todas as informações obtidas no estudo dos tratamentos em tempos diferentes, observa-se que: (1) a Bupi/Adr induziu um nível glicêmico mais alto aos 60 minutos do que as demais soluções (Lido/NAdr e sol. fisiológica); (2) os ratos que receberam sol. fisiológica e Lido/NAdr apresentam níveis glicêmicos, aos 180 min, inferiores aos níveis basais (tempo 0), com a Bupi/Adr isto não ocorre; (3) em todos os grupos ocorre uma tendência decrescente do nível glicêmico, no grupo como soro fisiológico, porém, há evidências de que essa queda é mais acentuada que nos demais grupos.

3 - COMPARAÇÃO DOS TRATAMENTOS EM RATOS DIABÉTICOS ALOXÂNICOS.

Da mesma forma, que no estudo dos ratos normais, foi inicialmente aplicado o teste F-máximo para verificar-se a homocedasticidade dos dados. Os resultados obtidos encontram-se na tabela 5.3.1.

Tabela 5.3.1 - ANOVAS realizadas para comparar as soluções utilizadas, em cada tempo considerado no experimento, e valores de F-máximo para homogeneidade de variância.

TEMPO	FONTE DE VARIACÃO	G. L.	Q. M.	F	PROB > F	F-máx.
0	SOLUÇÕES	2	1543,333	0,18	0,8402	1,69
	RESÍDUO	27	8805,674			
30	SOLUÇÕES	2	1194,700	0,17	0,3447	1,35
	RESÍDUO	27	7129,514			
60	SOLUÇÕES	2	1445,733	0,20	0,8176	1,53
	RESÍDUO	27	7125,092			
120	SOLUÇÕES	2	3241,200	0,48	0,6234	1,07
	RESÍDUO	27	6740,281			
180	SOLUÇÕES	2	559,233	0,09	0,9177	1,91
	RESÍDUO	27	6491,129			
240	SOLUÇÕES	2	753,433	0,09	0,9097	2,08
	RESÍDUO	27	7933,633			

(*) - O valor correspondente ao total da ANOVA foi omitida nesta tabela, por ser a adição da soma de quadrados referente a soluções e resíduo.

Observa-se que não existe diferença estatisticamente significativas entre as soluções estudadas. Assim, o teste de TUKEY (5%), para compararmos as médias de glicemia nos grupos de tratamentos (soluções), não foi aplicado.

Pode-se afirmar, com base no teste acima, que não existe uma diferença estatisticamente detectável, entre as soluções anestésicas administradas e o controle, nos ratos diabéticos aloxânicos, como pode ser observado na figura 5.3.1.

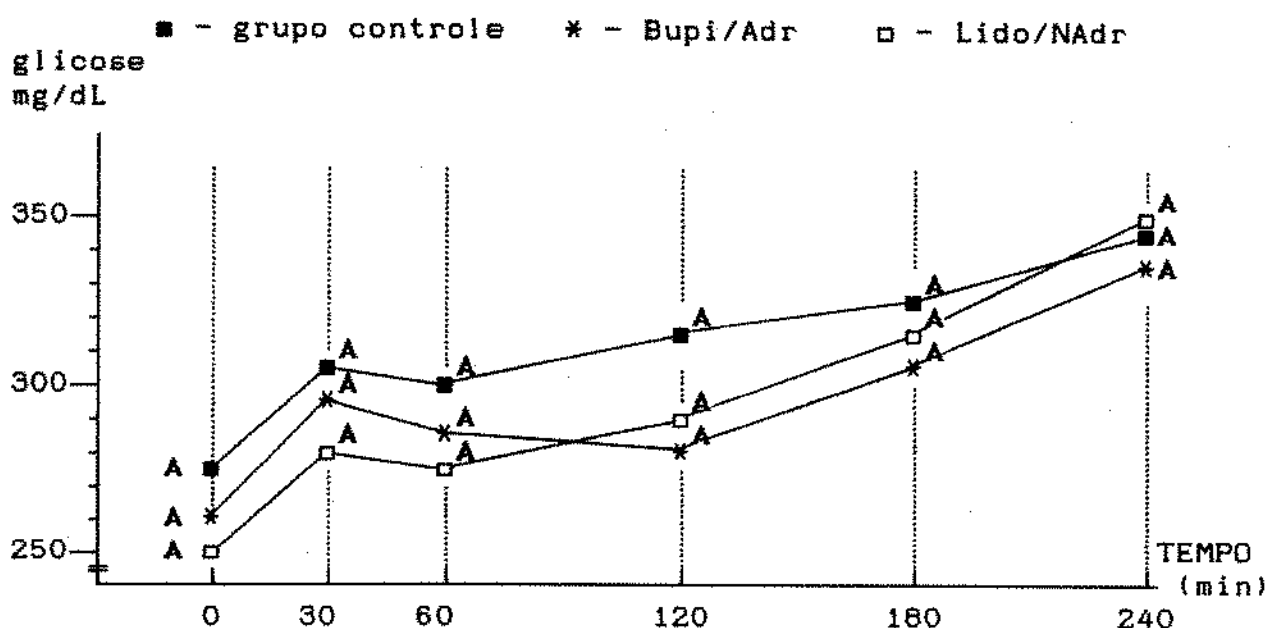


Figura 5.3.1.- Comportamento do nível glicêmico durante experimento com os ratos diabéticos aloxânicos. Letras iguais indicam que não houve diferença estatisticamente detectável naquele tempo entre as soluções.

Para o estudo dos diferentes tempos, em cada solução utilizada, aplicou-se também, os mesmos testes para os ratos normais.

Os resultados da ANOVA para Lido/NAdr estão apresentados na tabela, dado que o resultado do teste de homogeneidade ($F_{max} = 1,65$) é não significativo, demonstrando homogeneidade de variância.

Tabela 5.3.2- ANOVA com delineamento "Blocos ao Acaso" para os resultados obtidos com Lido/NAdr.

FONTE DE VARIAÇÃO	G. L.	QM	F	PROB > F
BLOCOS (ANIMAIS)	9	32181,362	-	-
TEMPOS	5	9270,426	9,74	0,0001
RESIDUO	45	951,411		
TOTAL	59			

Este resultado indica que existe diferença(s) entre os tempos considerados, requerendo a realização do teste de TUKEY (5%) com a finalidade de se detectar em que tempo(s) há diferença conforme a Tabela 5.3.3.

Tabela 5.3.3.- Teste de TUKEY (5%) para os resultados com a Lido/NAdr. Os tempos com letras diferentes são significantes.

TEMPO	MÉDIAS	GRUPO
240	334,40	A
180	320,70	A B
120	292,20	B C
60	280,40	B C
30	273,90	C
0	252,60	C

(*) DMS = 41,052

Estes resultados indicam que os tempos 120 e 240; 0 e 180; 0 e 240; 30 e 240 e, 60 e 240 diferem um do outro. Na figura 5.3.2 o gráfico ilustra esse comportamento glicêmico.

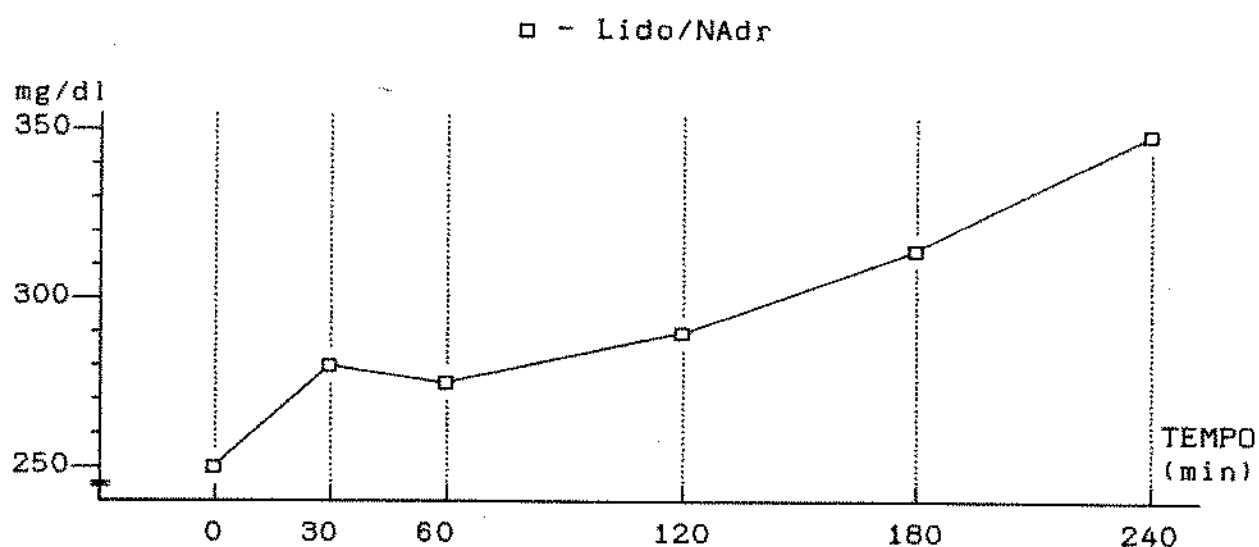


Figura 5.3.2.- Comportamento do nível glicêmico durante experimento com os ratos diabéticos aloxânicos.

Para Bupi/Adr os resultados obtidos da ANOVA estão na tabela 5.3.2. O resultado do teste de homogeneidade ($F_{max} = 1,85$), é não significativo, demonstrando a homogeneidade de variâncias.

Tabela 5.3.4- ANOVA com delineamento "Blocos ao Acaso" para os resultados da Bupi/Adr.

FONTE DE VARIAÇÃO	G. L.	QM	F	PROB > F
BLOCOS (ANIMAIS)	9	48666,044	-	-
TEMPOS	5	11099,160	8,15	0,001
RESIDUO	45	1362,671		
TOTAL	59			

Este resultado demonstra que há pelos menos uma diferença entre os tempos. Para se detectar essa(s) diferença(s) aplicou-se o teste de TUKEY nível 5%, conforme tabela 5.3.5.

Tabela 5.3.5.- Teste de TUKEY (5%) para os resultados com a Bupi/Adr. Os tempos com letras diferentes são significantes.

TEMPO	MÉDIAS	GRUPO
240	351,70	A
180	310,00	A B
30	296,40	B C
60	281,70	B C
120	280,20	B C
0	253,60	C

(*) DMS = 49,13

O resultado obtido com o teste de TUKEY mostra diferenças entre os tempos 0 e 180; 0 e 240; 30 e 240; 60 e 240 e, 120 e 240. Na figura 5.3.3 o gráfico mostra a variação no nível glicêmico durante o tratamento com a Bupi/Adr.

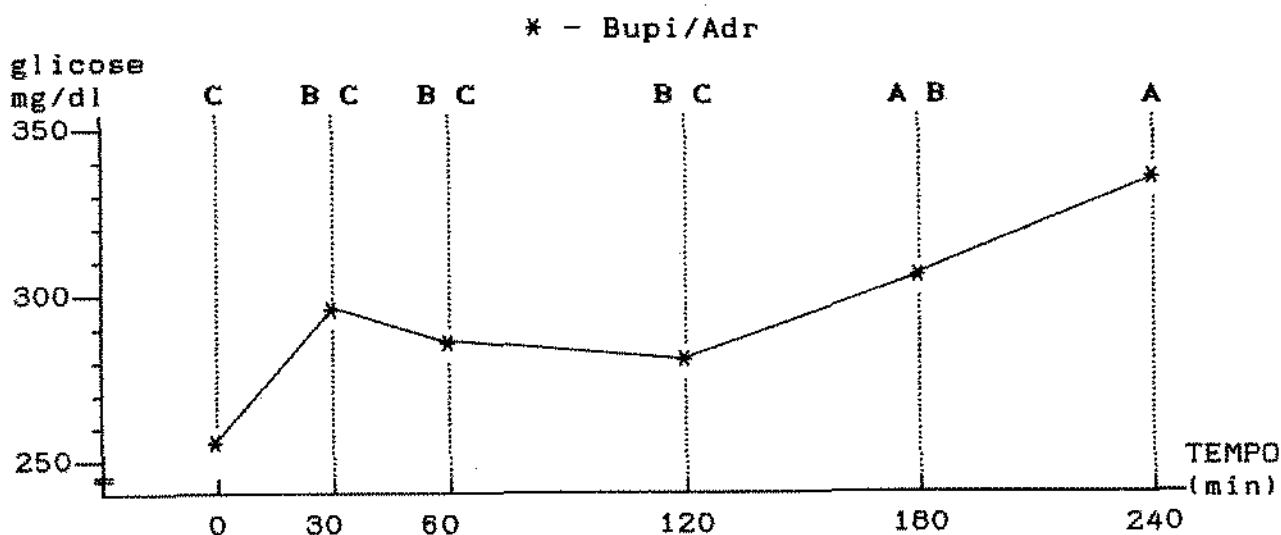


Figura 5.3.1.- Comportamento do nível glicêmico durante experimento com os ratos diabéticos aloxânicos.

Para os resultados referentes ao controle utilizou-se os mesmos procedimentos descritos para Lido/NAdr e Bupi/Adr. O resultado obtido para o teste de F-máximo = 1,376, para o controle, é não significativo, que demonstra a homogeneidade de variância. Aplicou-se então, o teste ANOVA, com o mesmo delineamento anterior, conforme tabela 5.3.6.

Tabela 5.3.6.- ANOVA para grupo controle (solução fisiológica).

FONTE DE VARIÇÃO	g. L.	QM	F	PROB > F
BLOCOS (ANIMAIS)	9	36385,739	-	-
TEMPOS	5	5462,440	7,05	0,0001
RESIDUO	45	774,484		
TOTAL	59			

Na seqüência, como existem diferenças detectáveis entre os tempos, aplicou-se o teste de TUKEY (5%) conforme tabela 5.3.7.

Tabela 5.3.7.- Teste de TUKEY (5%) aplicado para grupo controle.

TEMPO	MÉDIAS	GRUPO
240	341,80	A
180	324,40	A B
120	315,60	B C
30	301,30	B C
60	297,50	B C
0	274,60	C

(*) DMS = 37,039

O Teste de TUKEY (5%) mostra diferenças entre nos tempos de 0 e 120, 0 e 180, 0 e 240, 30 e 240, 60 e 240. Na figura 5.3.4. o gráfico ilustra o comportamento da glicemia nos ratos controles.

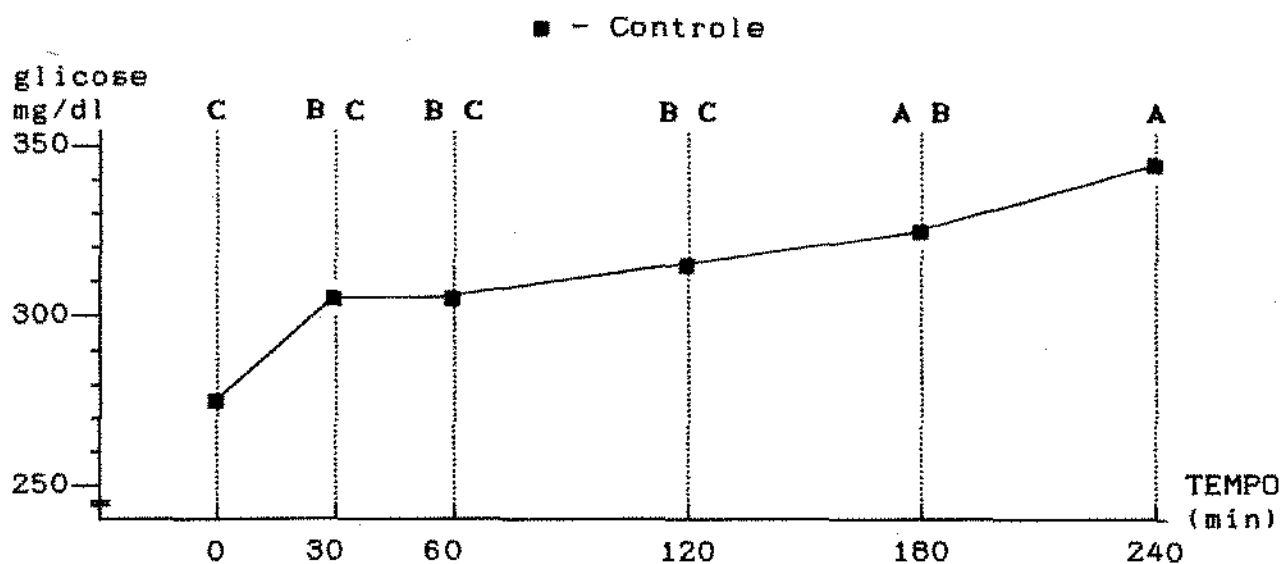


Figura 5.3.4.- Comportamento do nível glicêmico durante experimento com os ratos diabéticos aloxânicos.

Resumindo todas as informações obtidas no estudo dos tratamentos em diferentes tempos, observa-se que: (1) não houve diferenças estatisticamente detectáveis entre os tratamentos; (2) nos três grupos, pode-se notar um aumento no nível glicêmico com o passar do tempo, contudo, quando observa-se esse aumento comparando os tratamentos, pode-se verificar que em média o nível glicêmico dos ratos com Bupi/Adr e Lido/NAdr apresenta-se um pouco mais elevado que nos ratos controle. Essa observação baseia-se no fato que nos três tratamentos não houve diferenças entre os tempos 0 e 30 e 0 e 60; porém quando observa-se os tempos de 120 e 240 observa-se que houve diferença entre os anestésicos o que não ocorreu com o controle. Para demonstrar esse fato foi traçado um gráfico como mostra figura 5.3.5.

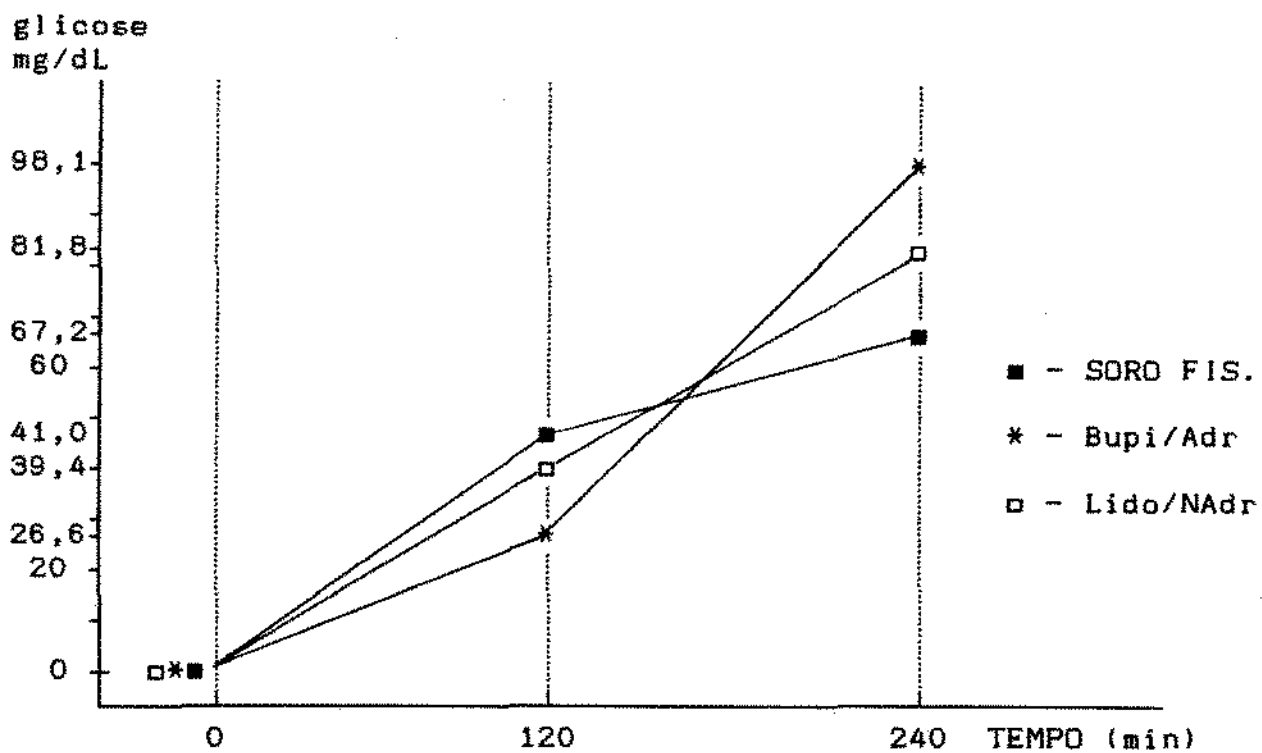


Figura 5.3.5.- Variações da glicemia nos ratos diabéticos aloxânicos levando em consideração o aumento que ocorreu entre tempos 0 e 120 e 120 e 240, descontado os níveis basais.

CAPÍTULO VI

DISCUSSÃO

Na determinação da glicemia, as discussões sobre o tipo de amostra a ser analisada, isto é, sangue total, soro ou plasma, são pertinentes pois os resultados da análise podem ser influenciados de maneira significativa de acordo com o método utilizado.

Embora a literatura existente sobre a determinação da glicose sangüínea seja numerosa, os métodos atualmente mais utilizados são dois. O método da ortotoluidina, que permite a determinação em soro ou plasma através de um processo colorimétrico, e o enzimático que permite determinações em sangue total, soro ou plasma.

O método da tira reagente, usado neste experimento, é uma modificação dos métodos enzimáticos, e a determinação é feita em sangue total. Essa determinação, segundo alguns autores, é cerca de 10 mg/dL inferior que as determinações realizadas em soro ou plasma, como afirma LIMA et alii (1985). Alguns estudos, porém, comparando os três métodos, como de FANTON et alii (1982), que comparou método da ortotoluidina, enzimático e tira reagente, mostra concordância entre os resultados obtidos nos três métodos.

Até algum tempo atrás, o método da tira reagente era qualitativo e, permitia a determinação através de uma escala de cores. Mais recentemente, esse método foi adaptado para uma leitura em aparelho fotométrico, possibilitando uma determinação quantitativa, logo, mais precisa. Assim, o método da tira reagente, como o Haemo-glukotest[®], que realizava uma determinação qualitativa passou a determinar a glicemia de uma forma mais correta, quantitativamente.

Nesse experimento a escolha do método para se determinar o nível glicêmico foi muito importante. Investigou-se as alterações na glicemia em ratos normais e diabéticos aloxânicos após administração de soluções anestésicas locais com vasoconstritores associados, utilizando-se a técnica da curva glicêmica descrita por LIMA et alii (1985).

Para se determinar a glicemia nos tempos da curva glicêmica era necessário efetuar cinco colheitas de sangue nos animais. Tempo 0 (basal), antes da administração das soluções, e 30, 60, 120 e 180 minutos após administração das drogas. Por outro lado, para se determinar a glicose em soro ou plasma é necessário pelo menos 1,0 mL de sangue para se obter cerca de 0,5 mL de soro ou plasma. Como seriam realizados cinco determinações precisava-se coletar cerca de 5,0 mL de sangue. Isso poderia provocar um choque hipovolêmico nos animais, pois segundo CHERRINGTON et alii (1984), o choque hemorrágico pode aumentar os níveis de catecolaminas em até 100 vezes. Por esse motivo também, logo após o seccionamento transversal da cauda dos animais, estas eram amarradas para se evitar uma hemorragia excessiva.

Dessa forma, os métodos tradicionais para se determinar a glicemia em soro ou plasma se mostraram inadequados para o experimento. O método Haemo-glukotest[®] com leitura em aparelho Reflolux II[®] apresentou-se como um método adequado, pois a determinação da glicose seria possível com apenas uma gota de sangue. A escolha do Reflolux II[®] foi feita com base no trabalho de BRODRICK et alii (1987), onde afirmam que o potencial de erros neste aparelho é menor, além do que a sensibilidade do método permite a determinação de níveis glicêmicos entre 10 e 500 mg/dL.

Uma vez definido o método para a determinação da glicose sangüínea, fez-se necessário definir como colher as amostras. O corte transversal na cauda foi escolhido como satisfatório. Porém, apresentava o problema do stress que os animais poderiam ser submetidos durante as cinco colheitas de sangue do experimento. O stress, segundo SHERWIN et alii (1980), faz com que aumentem os níveis glicêmicos em decorrência de uma maior liberação de catecolaminas.

Então para avaliar se o stress da colheita poderia influenciar na determinação da glicemia, realizou-se curvas glicêmicas em 20 ratos normais, dos quais dez foram sedados com pentobarbital sódico e os outros dez não. Através da análise estatística dos resultados obtidos verificou-se que houve diferença entre os sedados e os não sedados. A curva glicêmica dos ratos sedados voltou mais rapidamente aos níveis basais. Isso pode ser observado aos 60 minutos após a administração do dextrosol. Nos ratos que não foram sedados a volta da glicemia aos valores basais se processou mais lentamente, e só ocorreu aos 180 minutos após administração do dextrosol, revelando assim evidências de uma intolerância à glicose.

O fato dos animais, que não foram sedados, apresentarem evidências de intolerância à glicose pode ser explicado pela elevação dos níveis das catecolaminas plasmáticas em decorrência do stress. Segundo SHERWIN & SACCA (1984), as catecolaminas induzem intolerância à glicose. Isso ocorre porque as catecolaminas, interferem com a secreção e com a ação da insulina.

Dessa forma, para se atenuar o efeito do stress sobre os ratos durante o experimento, administrou-se pentobarbital sódico 15 minutos antes do início da primeira colheita. Por outro lado, os animais sedados permaneceram menos agitados facilitando os procedimentos experimentais.

Adicionalmente verificou-se que o pentobarbital sódico não interferiu na glicemia dos animais, pois não houve diferença estatisticamente significativa, no tempo 0, entre os ratos sedados e não sedados. A sedação devida ao pentobarbital sódico no início do experimento, é mais acentuada. Esse fato é importante pois no início as colheitas foram efetuadas a cada 30 minutos (tempo 0, 30 e 60) e no final, a cada 60 minutos (120 e 180 minutos).

Os resultados das determinações de glicemia dos ratos normais que receberam Bupivacaína com Adrenalina (Bupi/Adr), Lidocaína com Noradrenalina (Lido/NAdr) e Solução Fisiológica (SF) foram submetidos a tratamento estatístico. Quando comparou-se esses resultados, nos diferentes tratamentos em função do tempo onde as determinações foram realizadas, observou-se que no tempo 0 não houve diferença entre as determinações, mostrando que a glicemia dos ratos normais, em jejum de 12 horas, estava em nível semelhante nos três grupos experimentais.

GUIMARÃES et alii em 1980, determinaram níveis médios de glicemia plasmática em ratos Wistar, obtendo 89,4 mg/dL (\pm 3,65 mg/dL) em jejum. No presente trabalho os valores médios de glicemia em jejum situaram-se entre 76,8 mg/dL e 84,3 mg/dL, em sangue total. Considerando que as determinações em plasma são cerca de 10 mg/dL mais elevadas que as realizadas em sangue total pode-se dizer que os resultados são semelhantes. Porém, deve ser enfatizado que as condições experimentais e a metodologia empregada foram diferentes.

Comparando-se estatisticamente os resultados obtidos nos diferentes tratamentos em ratos normais observou-se uma elevação na glicemia dos ratos que receberam Bupi/Adr, no tempo de 60 minutos; isso não ocorreu com os demais tratamentos. Essa "hiperglicemia" aos 60 minutos, na verdade, era esperada aos 30 minutos, conforme demonstrado por SHERWIN & SACCA (1984). O fato de ter ocorrido aos 60 minutos, deve ter sido em função da via de administração utilizada. Nos experimentos encontrados na literatura as catecolaminas foram infundidas endovenosamente e no presente trabalho a administração foi pela via submucosa na região posterior da maxila. Esta via parece ter retardado o efeito metabólico da adrenalina, enquanto que o efeito vasoconstritor parece ter mantido a solução mais tempo no local administrado. Esse fato parece confirmar os argumentos de JASTAK & YAGIELA (1983) onde afirmam que o uso dos vasoconstritores nas soluções anestésicas retardam a absorção da droga.

A elevação do nível glicêmico aos 60 minutos deve ter ocorrido em função da glicogênólise hepática. Como os animais estavam em jejum, e durante o experimento não receberam nem alimento e nem água, o aumento do nível glicêmico aos 60 minutos deve ter ocorrido em função da liberação da glicose armazenada na forma de glicogênio. Pois segundo CRYER & GERICH (1983) e SACCA et alii (1983) as catecolaminas aumentam a glicemia em função da glicogênólise hepática. Um efeito na magnitude, mas não na duração, argumentam SHERWIN et alii (1980).

O presente trabalho parece demonstrar esse fato, pois no tempo seguinte (120 minutos), a glicemia voltou aos níveis anteriores e não houve diferença estatística significativa para o tempo de 120 minutos.

Um outro ponto que pode ter contribuído para o nível elevado da glicose aos 60 minutos é o fato da adrenalina diminuir a captação de glicose pelos tecidos e órgãos. Essa ação ocorre porque a adrenalina interfere, segundo SHERWIN & SACCA (1984) e CRYER et alii (1984), com a secreção e a ação da insulina. Além disso, a adrenalina também aumenta os níveis de ácidos graxos livres e segundo MURRAY et alii (1990), os tecidos periféricos metabolizam preferencialmente os ácidos graxos do que a glicose. Esses dois efeitos da adrenalina, diminuição da captação de glicose e o aumento na liberação de ácidos graxos livres podem também ter contribuído de alguma forma para que a elevação da glicemia, no tempo de 60 minutos fosse detectada.

Outro fato observado no presente trabalho foi que aos 60 minutos após a administração da Bupi/Adr, houve uma elevação do nível glicêmico, fato que não ocorreu com a Lido/NAdr. Isso parece confirmar os resultados de SACCA et alii (1980) onde encontraram que a hiperglicemia induzida pela adrenalina era maior do que a induzida pela noradrenalina.

Segundo CRYER (1984) a adrenalina é conhecida como inibidora da secreção de insulina, mesmo quando os níveis de insulina plasmática aumentem durante a hiperglicemia induzida pela adrenalina. A partir desses conceitos, pode-se supor, que durante a hiperglicemia induzida pelas catecolaminas o nível da insulina aumente, explicando, assim, a transitoriedade da glicogenólise. Esse fato também poderia explicar porque a hiperglicemia nos ratos normais não foi tão intensa.

Aos 180 minutos após a administração das soluções anestésicas locais, o nível glicêmico dos animais se apresentou inferior aos níveis basais. Em todos os grupos tratados ocorreu uma tendência decrescente do nível glicêmico. Porém, essa queda da glicemia mostrou-se mais acentuada no grupo controle do que nos demais grupos. O fato da glicemia declinar em função do tempo é aceitável devido ao próprio metabolismo dos animais, pois o experimento teve a duração de três horas, sendo que os animais também estavam sedados.

Contudo observou-se uma queda menor nos grupos que receberam Bupi/Adr e Lido/NAdr do que no grupo que recebeu SF. Isso demonstra a influência de algum fator na manutenção do nível glicêmico desses animais. Esse fator pode ter sido a gliconeogênese, pois segundo SHERWIN & SACCA (1984) os efeitos da gliconeogênese são observados mais tardiamente.

A gliconeogênese segundo SACCA et alii (1983) e SHERWIN & SACCA (1984) é mais importante que a glicogenólise, pois enquanto o efeito da glicogenólise é transitório o efeito da gliconeogênese é mais prolongado. O fato da gliconeogênese não ter sido tão bem caracterizada como foi a glicogenólise, aos 60 minutos, reforça a hipótese que a hiperglicemia induzida pelas catecolaminas contidas em soluções anestésicas locais não é tão significativa em animais normais.

Com base nos resultados obtidos, podemos argumentar que a hiperglicemia induzida pelas catecolaminas associadas às soluções anestésicas locais, em ratos normais, não foi significativa. A hiperglicemia observada aos 60 minutos com a Bupi/Adr, provavelmente em função da glicogenólise, foi apenas transitória e a gliconeogênese, que seria o efeito mais importante, não foi completamente demonstrada. Houve apenas evidências dela ter ocorrido, isso em função da glicemia ter declinado menos nos grupos tratados que no controle. Porém a análise estatística não mostrou diferença significativa quando comparou-se os tratamentos no tempo final de 180 minutos.

Com relação aos ratos diabéticos aloxânicos, o nível glicêmico variou muito. Foi difícil padronizar a glicemia inicial (tempo 0), já que esta oscilou entre 150 mg/dL e 350 mg/dL, enquanto que nos ratos normais a glicemia inicial não variou tanto. Apesar dessa variação, não houve diferença estatística entre os grupos experimentais no tempo 0, demonstrando que a glicemia dos animais diabéticos estavam em níveis semelhantes no início do experimento.

O tratamento estatístico aplicado demonstrou não haver diferença entre os tratamentos. Esse fato a princípio, não era esperado pois segundo CHRISTENSEN (1979), as catecolaminas potencializam seus efeitos em diabéticos, uma vez que as alterações metabólicas produzidas pelas catecolaminas, em muitos aspectos, são semelhantes às alterações metabólicas que ocorrem no paciente diabético.

Pode-se argumentar, ainda, que o fato de não ter havido diferenças entre os tratamentos, demonstra que a quantidade de catecolaminas administrada em associação com os anestésicos locais, não foi suficiente para induzir uma hiperglicemia que pudesse ser estatisticamente significativa.

Por outro lado, se houvesse uma diferença muito significativa entre os demais tempos do experimento esta deveria ter sido evidenciada. Contudo, nem mesmo a glicogenólise que ocorreu nos ratos normais foi observada nos ratos diabéticos aloxânicos. Tanto que quando os tratamentos foram analisados individualmente não houve diferenças estatisticamente significantes entre os tempo 0 e 30 minutos e os tempos 0 e 60 minutos. Esse fato poderia reforçar mais uma vez a hipótese que as catecolaminas associadas aos anestésicos locais não induzem a uma hiperglicemia acentuada visto não haver diferença significativa entre os tratamentos Lido/NAdr, Bupi/Adr e solução fisiológica.

Em todos os grupos experimentais com os ratos diabéticos aloxânicos houve uma tendência crescente, embora lenta, no nível glicêmico, ou seja a glicemia aumentou com o passar do tempo, de maneira contrária ao que ocorreu com os ratos normais, onde a glicemia declinou durante o experimento.

O fato da glicemia ter-se elevado durante o experimento, tanto nos animais tratados como no controle, poderia ser explicado da seguinte forma: apesar dos animais estarem sedados a colheita deve ter sido estressante para os animais diabéticos pois segundo CHRISTENSEN (1974 e 1979) situações de stress podem agravar seriamente a situação metabólica do diabético. Adicionalmente as 12 horas de jejum e mais 4 horas de duração do experimento, podem ter levado esses animais à uma necessidade maior de insulina pois no período anterior ao experimento estavam sendo controlados por doses diárias de uma unidade de insulina. Além disso, a hiperglicemia pode ter sido pela gliconeogênese através da produção de carboidratos a partir de ácidos graxos e proteínas, situações estas que ocorrem quando há falta de insulina.

A análise estatística dos valores médios da glicemia, nos diferentes tratamentos e nos tempos onde as colheitas foram realizadas, mostrou não haver diferenças significantes entre os tempos 0 e 30 e 0 e 60. Porém esta mesma análise mostrou diferenças significantes entre os tempos 120 e 240 com Bupi/Adr e Lido/NAdr, mas com a solução fisiológica. Isso pode caracterizar que não ocorreu glicogenólise, porém a diferença a partir do tempo de 120 minutos parece demonstrar a possível ocorrência de gliconeogênese. Porém, esta possível gliconeogênese não ficou evidenciada quando os resultados foram comparados nos diferentes tratamentos e nos diferentes tempos, pois não revelaram diferenças estatisticamente significantes.

Uma vez que provavelmente não houve glicogenólise entre 30 e 60 minutos e gliconeogênese entre 120 e 240 minutos, pode-se considerar que os vasoconstritores adrenalina e noradrenalina - associados aos anestésicos locais, não induziram uma hiperglicemia, estatisticamente significativa, também nos ratos diabéticos aloxânicos.

De acordo com os resultados obtidos e levando-se em consideração o objetivo inicial do presente trabalho, pode-se inferir que a adrenalina e a noradrenalina, quando associados à soluções anestésicas locais, não causaram uma hiperglicemia, estatisticamente significativa, nos ratos normais e nos diabéticos aloxânicos. Por outro lado, deve-se destacar que as doses utilizadas foram altas e o fato de não terem causado hiperglicemia estatisticamente significativa, reforça a hipótese de que o uso desses vasoconstritores com anestésicos locais deva ser reconsiderada em função dos resultados obtidos no presente trabalho e, obviamente, por estudos futuros que contribuirão com o assunto.

CAPÍTULO VII

CONCLUSÕES

Após a análise e discussão dos resultados, e dentro das condições experimentais em que foi realizado o presente trabalho, pode-se concluir que:

- 1) A intolerância à glicose observada nos ratos normais não sedados, foi provavelmente devido a uma liberação de catecolaminas endógenas provocada pelo stress proveniente das colheitas de sangue;
- 2) A provável glicogenólise observada aos 60 minutos, nos ratos normais, quando da administração de cloridrato de Bupivacaína 0,5% com adrenalina 1:200.000, foi apenas transitória;
- 3) A gliconeogênese não foi evidenciada em nenhum dos grupos experimentais;
- 4) Os vasoconstritores associados às soluções anestésicas locais utilizadas, não causaram hiperglicemia significativa, tanto nos ratos normais, como nos diabéticos aloxânicos.

CAPÍTULO VIII

RESUMO

A adrenalina ou outra substância do tipo catecolamina associada as soluções anestésicas locais aumentam a eficiência e a duração da anestesia local. Por outro lado as catecolaminas induzem a uma série de efeitos metabólicos, entre eles a hiperglicemia.

No presente trabalho, administrou-se cloridrato de Bupivacaína a 0,5% com adrenalina 1:200.000 e cloridrato de Lidocaína a 2% com noradrenalina 1:50.000 na região posterior da maxila de ratos machos normais e diabéticos aloxânicos em doses equivalentes a 10 tubetes (adrenalina 90 μ g e noradrenalina 360 μ g). Taxas glicêmicas foram determinadas pelo sistema Haemo-Glukotest[®] 20-800 R, com leitura em Reflolux[®] II, antes da administração (tempo 0) e 30, 60, 120 e 180 minutos após administração da soluções anestésicas locais.

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância e teste de TUCKEY a nível de 5%. Para os ratos normais, a análise estatística mostrou diferença significativa no tempo de 60 minutos para Bupi/Adr., quando comparada com Lido/NAdr. e soro fisiológico (controle). Nos ratos diabéticos aloxânicos não houve diferença estatística significativa entre as soluções anestésicas locais.

Podemos concluir que os vasoconstritores associados aos anestésicos locais nas doses administradas não provocam uma hiperglicemia estatisticamente significativa. Visto que a glicogenólise aos 60 minutos foi transitória e a gliconeogênese que contribui para uma hiperglicemia mais duradoura não ocorreu em nenhum dos grupos experimentais.

SUMMARY

In order to evaluate the role of vasoconstrictors (contained in local anesthetics) in the glycemia, solutions of bupivacaine hydrochloride 0,5% with epinephrine 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and lignocaine 2% with norepinephrine 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ were administered (submucosal injection in the posterior region of maxilla) into normal aloxanic diabetic rats in equivalent doses of 10 cartridges. Glycemia rates were determined by Haemo-glukotest[®] System 20-800 R on the Reflolux[®] II, before administration (time 0) and 30, 60, 120 and 180 minutes after administration of local anesthetics and saline (control). The statistical analysis were performed with an analyses of variance (ANOVA) and TUKEY test ($p < 0,05$).

In a 60 minutes time, in normal rats, the administration of bupi/epinephrine led to an increase in glycemia statistically significant ($p < 0,05$) when compared to the administration of lido/norepinephrine and saline. In the aloxanic diabetic rats, there were no significant statistical differences among the solutions administered.

It is concluded that vasoconstrictors (epinephrine and norepinephrine) contained in local anesthetics in the administered doses did not alter glycemia significantly ($p < 0,05$). The transitory glycemia occurred in 60 minutes in normal rats, could be due to activation of glycogenolysis, since in this time gluconeogenesis could not have occurred.

CAPÍTULO IX

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ALTMAN, P.L., comp. Blood and other body fluids. Washington, Federation of American Societies for Experimental Biology, 1961, 544 p.
- 2 - ALTSZULER, N. et alii Glucose metabolism and plasma insulin level during epinephrine infusion in the dog. *Am. J. Physiol.*, 212: 677-82, 1967.
- 3 - ARAUJO, L.M.B. Tratamento do diabetes não insulino-dependente (NIDDM). *Folha med.*, 99(3): 119-22, 1989.
- 4 - BENNETT, P.H. The diagnosis of diabetes: new international classification and diagnostic criteria. *A. Rev. Med.*, 34: 295-309, 1983.

- 5 - BERK, M.A. et alii Enhanced glyceimic responsiveness the epinephrine in insulin-dependent diabetes mellitus is the result of the inability to secrete insulin. *J. clin. Invest.*, 75: 1842-51, 1985.
- 6 - BRAUN, H. Über den einfluss der vitalitat der gewebe auf ortlichen und algemeinen giftwirkungen lokal anesthesirender mittel und uber die bedeutung des adrenaline fur die lokalanesthesia. *Arch. klin. Chir.*, 69: 541, 1903.
- 7 - BRODRICK, J.M.; COLLOBY, P.S.; LEGG, E.I. Comparison of two new ward-based glucose meters. *Prat. Diabetes*, 4(4): 170-2, 1987.
- 8 - BURRIT, M.T. et alii Evaluation of the one touch glucose meter for use by a phlebotomy team. *Lab. Med.*, 21(8): 512-6, 1990.
- 9 - CARLOSTRÖN, S. Studies on fatty acid metabolism in diabetics during exercise. VII. Plasma glycerol concentrations in juvenile diabetics during exercise before and after adequate insulin treatment. *Acta med. scand.*, 186: 429-32, (1969).
- 10 - CARLOSTRÖN, S. & KARLEFORS, T. Studies on fatty acid metabolism in diabetics during exercise. IV. Plasma free fatty acid concentrations and hemodynamics in juvenile diabetics during exercise before and after adequate insulin treatment. *Acta med. scand.*, 181: 747-57, (1967).
- 11 - CARUANA, P.; PATEROMICHELAKIS, S.; ROOD, J.P. The effects of adrenaline on lignocaine nerve block anaesthesia. *J. Dent.* 10(2): 140-3, 1982.

- 12 - CHERRINGTON, A.D. & EXTRON, J.H. Studies on the role of cAMP dependent protein kinase in the actions of glucagon and catecholamines on liver glucagon metabolism. *metabolism*, 25: 1351-54, 1976.
- 13 - _____. et alii Effect of epinephrine on glycogenolysis and gluconeogenesis in conscious overnight fasted dogs. *Am. J. Physiol.*, 247(1.2): E137-44, 1984.
- 14 - CHIDECKEL, E.W. et alii Role of glucagon in mediating metabolic effects of epinephrine. *Am. J. Physiol.*, 232: E464-70, 1977.
- 15 - CHRISTENSEN, N.J. Abnormally high plasma catecholamines at rest and during exercise in ketotic juvenile diabetes. *Scand. J. clin. Lab. Invest.*, 26: 343-4, 1970.
- 16 - _____. Catecholamines and Diabetes mellitus. *Diabetologia*, 16: 211-24, 1979.
- 17 - CLUTTER, W.E.; BIER, D.M.; SHAH, S.D. Epinephrine plasma metabolic clearance rates and physiologic thresholds for metabolic hemodynamic actions in man. *J. clin. Invest.*, 66: 94-101, 1980.
- 18 - COELHO, J.C. Hipoglicemia em paciente geriatrico. *J. bras. Med.*, 58(4): 28-44, 1990.
- 19 - COLCA, J.R. et alii Alloxan inhibition of Ca^{2+} and calmodulin-dependent protein kinase activity in pancreatic islets. *J. biol. Chem.*, 258: 7260-3, 1983a.
- 20 - _____. et alii Correlation of Ca^{2+} and calmodulin-dependent protein kinase activity with secretion of insulin from islets of Langerhans. *Biochem. J.*, 212: 819-27, 1983b.

- 21 - CORI, C.F. & CORI, G.T. The mechanism of epinephrine action. II. The influence of epinephrine and insulin on the carbohydrate metabolism of rats in the postabsorptive state. *J. Biol. Chem.*, 79: 321-41, 1928.
- 22 - CRYER, P.E. Catecholamines and metabolism. *Am. J. Physiol.*, 247: E1-3, 1984.
- 23 - _____. Glucose counterregulation in man. *Diabetes*, 30: 261-64, 1981.
- 24 - _____. & GERICH, J.E. Relevance of glucose counterregulatory systems to patients with diabetes: critical roles of glucagon and epinephrine. *Diabetes Care*, 1(6): 95-9, 1983.
- 25 - _____. et alii Roles of glucagon and epinephrine in hypoglycemic and nonhypoglycemic glucose conterregulation in humans. *Am. J. Physiol.*, 247: E198-205, 1984.
- 26 - DIEBERT, D.C. & DeFRONZO, R.A. Epinephrine-induced insulin resistance in man. *J. clin. Invest.*, 65: 717-721, 1980.
- 27 - FANTON, N.C. et alii Influência do método analítico sobre resultados glicêmicos. Comparações entre os métodos: manual, automatizado e fita-reagente. *Revta. bras. Patol. clin.*, 18(6): 169-71, 1982.
- 28 - FOLIN, O. & WU, H. A simplified and improved method for determination of sugar. *J. Biol. Chem.*, 41: 367-74, 1920.
- 29 - GALBO, H.; CHRISTENSEN, N.J.; HOLST, J.J. Glucose-induced decrease in glucagon and epinephrine responses to exercise in man. *J. appl. Physiol.*, 42: 525-530, 1977.

- 30 - GERICH, J.E.; CRYER, P.E.; RIZZA, R.A. Hormonal mechanisms in counte glucose counter-regulation: the relative roles of glucagon, epinephrine, norepinephrine, growth hormone and cortisol. *Metabolism*, 29: 1164-75, 1980.
- 31 - _____, et alii Adrenergic modulation of pancreatic glucagon secretion in man. *J. clin. Invest.*, 53: 1441-446, 1974.
- 32 - _____, et alii Studies on the mechanism of epinephrine-induced hyperglycemia in man. Evidence for participation of pancreatic glucagon secretion. *Diabetes*, 25: 65-71, 1976.
- 33 - GOODMAN, L.S. & GILMAN, A. *Goodman e Gilman : as bases farmacológicas da terapêutica*, ed. por Alfred Goodman Gilman e outros. 7.ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1987.
- 34 - GRAY, D.E.; LICLEY, H.L.A.; VRANIC, M. Physiologic effects of epinephrine on glucose turnover and plasma free fatty acid concentrations mediated independently of glucagon. *Diabetes*, 29: 600-8, 1980.
- 35 - GUIMARÃES, A. et alii Effects of salivary gland active principle (Parotin) on glycaemic level and hepatic glucagon content in alloxan-diabetic rats: salivary gland active principle and diabetic rats. *Archs oral. biol.*, 25: 11-3, 1980.
- 36 - GUYTON, A.C. *Tratado de fisiologia médica*. 8.ed. Rio de Janeiro, Guanabara, 1989.
- 37 - HALTER, J.B.; BEARD, J.C.; PORTE D.J. Islet function and stress hyperglycemia plasma glucose and epinephrine interaction. *Am. J. Physiol*, 247: E47-52, 1984.

- 38 - HAMBURG, S.; HENDLER, R.; SHERWIN, R.S. Influence of small increments of epinephrine on glucose tolerance in normal humans. *Ann. Intern. med.*, 93: 566-68, 1980.
- 39 - HANSEN, A.P. Normalization of growth hormone hyperresponse to exercise in juvenile diabetes after normalization of blood sugar. *J. clin. Invest.*, 50: 1806-11, 1971.
- 40 - HARPER, H.A.; RODWEL, V.W.; MAYES, P.A. *Manual de química fisiológica*. 5.ed. São Paulo, Atheneu, 1982, 736 p.
- 41 - HERS, H.G. The control of glycogen metabolins in the liver. *A. Rev. Biochem.*, 45: 167-89, 1976.
- 42 - HOLM, G. Adrenergic regulation of insulin release. *Acta med. scand.*, 672: 21-5, 1983.
- 43 - HULTMAN, E. Rapid specific method for determination of aldosesaccharides in body fluids. *Nature*, 183: 108-9, 1959.
- 44 - _____ & NILSSON, L.H. Liver glycogen in man: effect of different diets and muscular exercise. *Adv. expl. Med. biol.*, 11: 143-51, 1971.
- 45 - ISSEKUTZ, B. & ALLEN, M. Effect of catecholamines and methylprednisolone on carbohydrate metabolism of dogs. *Metabolism*, 21: 48-59, 1972.
- 46 - JASTAK, J.T. & YAGIELA, J.A. Vasoconstrictors and local anesthesia: a review and rationale for use. *J. Am. dent. Ass.*, 107: 623-30, 1983.
- 47 - JUSTINO, D.A.F. Exames laboratoriais em odontologia. *Revta Ass. paul. Cirurg. dent.*, 42(2): 143-4, 1988.

- 48 - KEMMER, F.W. et alii State of metabolic control determines role of epinephrine-glucagon interaction in glucoregulation in diabetes. *Am. J. Physiol.*, 242 : 428-36, 1982.
- 49 - LABTEST Sistema para diagnóstico. Belo Horizonte, 1985, 74p.
- 50 - LAUTT, W. Hepatic nerves: a review of the functions and effects. *Can. J. physiol. Pharmacol.*, 58: 105-23, 1980.
- 51 - LIMA, A.D. et alii Métodos de laboratório aplicados à clínica. 8.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1985, 699 p.
- 52 - MAZZE, R.S. & CEMBROWSKI, G.S. Diabetes and clinical laboratory. *Lab. Med.*, 21(8): 487-8, 1990.
- 53 - MOURA, R.A.A. Técnicas de laboratório. 2.ed. São Paulo, Atheneu, 1982, 822 p.
- 54 - MULLER, W.A.; AOKI, T.T.; EGDAHL, R.H. Effects of exogenous glucagon and epinephrine in physiological amounts on the blood levels free fatty acids and glicerol in dogs. *Diabetologia*, 13: 55-8, 1977.
- 55 - MURRAY, R.K. et alii Harper: Bioquímica. 6.ed. São Paulo, Atheneu, 1990, 705 p.
- 56 - NEIDLE, E.A. Drogas adrenérgicas. In: _____, & YAGIELA, J.A. Farmacologia e terapêutica para dentistas. 3.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1991. cap. 6., p. 78-88.
- 57 - NOBIN, A.B.F. Glucose disposal during insulinopenia in somatostatin treated dogs. *J. clin. Invest.*, 62: 478-91, 1977.
- 58 - OSIE, A.M. Management of the diabetic dental patient. *Quintess. Int.*, 21(6): 491-4, 1990.

- 59 - PILEGGI, V.J. & SZUSTRIEWICZ, C.P. Hidratos de Carbono. In: HENRY, R.J.; CANNON, D.C.; WINKELMAN, J.W. *Química clínica: principios y técnicas*. 2.ed. Barcelona, Editorial Jims, 1980. p. 1279-1339
- 60 - REPORT of the Special Committee of the New York Heart Association, Inc. On the use of epinephrine in connection with procaine in dental procedures. *J. Am. dent. Ass.*, 50:108, 1955.
- 61 - RIZZA, R.A.; CRYER, P.E.; GERICH, J.E. Role of glucagon epinephrine and growth hormone in human glucose counter regulation: effects of somatostatin and adrenergic blockade on plasma glucose recovery and glucose flux rates following insulin-induced hypoglycemia. *J. clin. Invest.*, 54: 62-71, 1979a.
- 62 - _____. et alii Adrenergic mechanisms for the effects of epinephrine on glucose production and clearance in man. *J. clin. Invest.*, 65: 682-9, 1980a.
- 63 - _____. et alii Differential effects of epinephrine on glucose production and disposal in man. *Am. J. Physiol.* 237: E356-62, 1979b.
- 64 - _____. et alii Effect of α -adrenergic stimulation and its blockade on glucose turnover in man. *Am. J. Physiol.*, 238: E467-72, 1980b.
- 65 - ROBBINS, S.L.; ANGELL, M.; KUMAR, V. Doenças genéticas. In: _____; _____; _____. *Patologia básica*. 3.ed. São Paulo, Atheneu, 1986 cap.6, p. 151-201.
- 66 - ROBERTSON, R.P. & PORTE JUNIOR, D. The glucose receptor. A defective mechanism in diabetes mellitus distinct from the β -adrenergic receptor. *J. clin. Invest.*, 52: 870-6, 1973.

- 67 - SACCA, L.; HENDLER, G.; SHERWIN, R.S. Hyperglycemia inhibits glucose production in man independent of changes in glucoregulatory hormones. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 47: 1160-3, 1978a.
- 68 - _____; SHERWIN, R.S.; FELIG, P. Effect of sequential infusions of glucagon and epinephrine on glucose turnover in the dog. *Am. J. Physiol.*, 235: E287-90, 1978b.
- 69 - _____; _____; _____. Influence of somatostatin on glucagon and epinephrine-stimulated hepatic glucose output in the dog. *Am. J. Physiol.*, 236: E113-7, 1979b.
- 70 - _____; _____; HENDLER, R. Influence of continuous physiologic hyperinsulinemia on glucose kinetics and counterregulatory hormones in normal and diabetic humans. *J. clin. Invest.*, 63: 849-57, 1979c.
- 71 - _____. et alii Influence of epinephrine, norepinephrine and isoproterenol and glucose homeostasis in normal man. *J. clin. Endocr. Metab.*, 50: 680-4, 1980.
- 72 - _____. et alii Insulin antagonistic effects of epinephrine and glucagon in the dog. *Am. J. Physiol.*, 237: E356-62, 1979a.
- 73 - _____. et alii Role of gluconeogenesis in epinephrine-stimulated hepatic glucose production in humans. *Am. J. Physiol.*, 245: E294-302, 1983.
- 74 - SAMOLS, E. & WEIR, G. Adrenergic modulation of pancreatic A, B and D cells. *J. clin. Invest.*, 63: 230-8, 1979.

- 75 - SHAMOON, H.; HENDLER, R.; SHERWIN, R.S. Synergistic interactions among antiinsulin hormones in the pathogenesis of stress hyperglycemia in humans. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 52: 1236-41, 1980.
- 76 - SHERWIN, R.S. & SACCA, L. Effect of epinephrine on glucose metabolism in humans: contribution of the liver. *Am. J. Physiol.*, 247: E157-65, 1984.
- 77 - _____, et alii Epinephrine and the regulation of glucose metabolism: Effect of Diabetes and Hormonal interactions. *Metabolism*, 29(11 suppl.1): 1146-54, 1980.
- 78 - SILVA, P. *Farmacologia*. 3.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1989 1322p.
- 79 - SOMOGYI, M. Studies of arterovenous differences in blood sugar. V. Effect of epinephrine on the rate of glucose assimilation. *J. biol. Chem.*, 186: 513-26, 1950.
- 80 - STATEN, M.A. et alii Epinephrine's effect on metabolic rate is independent of changes in plasma insulin or glucagon. *Am. J. Physiol.*, 257: E185-92, 1989.
- 81 - STEFFES, M.W. The clinical laboratory and Diabetes mellitus: the future. *Lab. Med.*, 21(8): 489-90, 1990.
- 82 - STEVENSON, R.W. et alii Lack of effect of somatostatin on epinephrine-stimulated glucose production in the dog. *Metabolism*, 36(5): 451-7, 1987.
- 83 - STRUTHERS, A.D. et alii Selective α_2 receptor blockade facilitates the insulin response to adrenaline but not to glucose in man. *Clin. Endocr.*, 23: 539-46, 1985.

- 84 - UCHIGATA, Y et alii Effect of poly (ADP-ribose) synthetase inhibitor administration to rats before and after injection of alloxan and streptozotocin on islet proinsulin synthesis. *Diabetes*, 32: 316-8, 1983.
- 85 - VEIGA, M.C.F.A.; TEIXEIRA, D.; BOAVENTURA, M.C. Efeitos das frações I, II, III e IV do princípio ativo "Parotin" sobre a captação de glicose pelo tecido adiposo de ratos normais e diabéticos. *Folha med.*, 98(3): 79-82, 1989.
- 86 - VRANIC, M. et alii Catecholamines responses and their interactions with other glucoregulatory hormones. *Am. J. Physiol.*, 247 : E145-56, 1984.
- 87 - WALAAS, O & WALAAS, E. Effect of epinephrine on the rat diaphragm. *J. biol. Chem.*, 187: 769-76, 1950.
- 88 - WOODSON, L.C.; BEE, D.E.; POTTER, D.E. Catecholamine-induced hyperglycemia in dogs : independence from alterations in pancreatic hormone release. *Horm. Metab. Res.*, 12: 434-9, 1980.
- 89 - _____ & POTTER, D.E. The influence of endogenous glucagon release on hyperglycemic responses the catecholamines in normal fed and Diabetic rats. *J. Pharmac. exp. Ther.*, 210: 458-64, 1979.
- 90 - YAGIELA, J.A. Anestésicos locais. In: NEIDLE, E.A. & YAGIELA, J.A. *Farmacologia e terapêutica para dentistas*. 3.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1989. cap. 17, p. 185-200.

CAPÍTULO X

ANEXOS

ANEXO 1

Tabelas suplementares dos resultados individuais das
determinações realizadas.

Tabela 1 - Determinações da glicose sangüínea em ratos normais onde administrou-se dextrosol 1,75g/Kg, I.P., precedida pela administração de pentobarbital sódico 30 μ g/Kg, I.P.. Determinações em mg/dL realizadas no tempo 0 (antes da administração) e 30, 60, 120 e 180 minutos após administração.

PESO (g) \ T E M P O	0	30	60	120	180
257	70	128	110	74	57
225	65	136	112	56	70
232	55	154	81	70	59
248	66	128	96	71	60
237	51	148	117	62	45
200	95	155	86	66	76
222	113	141	88	86	92
226	81	139	81	74	98
219	80	144	92	86	75
253	92	147	81	80	103

Tabela 2 - Determinações da glicose sangüínea em ratos normais onde administrou-se dextrosol 1,75g/Kg, I.P.. Determinações em mg/dL realizadas no tempo 0 (antes da administração) e 30, 60, 120 e 180 minutos após administração.

PESO (g) \ T E M P O	0	30	60	120	180
250	77	138	102	76	85
263	81	92	114	91	105
259	58	149	99	88	87
240	72	159	123	77	78
242	68	141	117	118	95
261	46	148	102	82	75
230	79	162	122	89	106
270	52	118	123	79	63
233	79	127	111	84	80
284	76	115	83	90	89

Tabela 3 - Determinações da glicose sangüínea em ratos normais onde administrou-se solução fisiológica na região posterior da maxila, precedida pela administração de pentobarbital sódico $30\mu\text{g}/\text{Kg}$, I.P.. Determinações em mg/dL realizadas tempo 0 (antes da administração) e 30, 60, 120 e 180 minutos após administração.

PESO (g)	TEMPO				
	0	30	60	120	180
297	77	78	75	58	54
241	81	70	71	83	58
288	84	85	84	73	77
274	74	75	65	78	63
241	72	69	61	67	62
280	85	82	66	73	69
246	94	74	70	77	72
247	96	68	66	68	65
243	99	89	67	74	65
238	81	78	72	64	65

Tabela 4 - Determinações da glicose sangüínea em ratos normais onde administrou-se cloridrato de Bupivacaína 0,5% com adrenalina 1:200.000 na região posterior da maxila, em dose equivalente a 10 tubetes de 1,8 mL ($90\mu\text{g}/\text{Kg}$).

PESO (g)	TEMPO				
	0	30	60	120	180
250	81	101	80	75	73
250	68	73	82	76	77
263	81	74	81	70	77
266	80	69	82	68	69
278	76	71	78	84	77
267	72	83	80	70	60
237	92	70	82	74	82
270	76	78	92	76	62
261	76	95	95	69	71
256	80	106	100	95	71

Tabela 5 - Determinações da glicose sangüínea em ratos normais onde administrou-se cloridrato de Lidocaina 2% com noradrenalina 1:50.000 na região posterior da maxila, em dose equivalente a 10 tubetes de 1,8 mL (360 μ g/Kg).

PESO (g)	TEMPO				
	0	30	60	120	180
280	108	83	98	92	74
245	82	81	80	98	80
280	77	78	68	85	78
237	84	71	79	97	78
220	82	78	67	60	56
303	88	80	75	60	73
286	84	84	80	73	81
277	60	62	69	73	76
267	79	78	64	68	60
269	84	63	59	69	61

Tabela 6 - Determinações da glicose sangüínea em ratos diabéticos onde administrou-se solução fisiológica na região posterior da maxila, precedida pela administração de pentobarbital sódico 30 μ g/Kg, I.P.. Determinações em mg/dL realizadas tempo 0 (antes da administração) e 30, 60, 120 e 180 minutos após administração.

PESO (g)	TEMPO					
	0	30	60	120	180	240
319	222	265	271	263	280	305
251	363	383	375	383	356	382
276	310	347	357	362	394	458
255	203	251	252	297	335	335
255	165	202	208	254	294	322
269	149	169	135	134	138	137
258	378	391	383	430	413	444
280	363	351	344	362	346	304
303	298	341	309	350	351	367
288	295	313	341	321	337	364

Tabela 7 - Determinações da glicose sangüínea em ratos diabéticos onde administrou-se cloridrato de Bupivacaina 0,5% com adrenalina 1:200.000 na região posterior da maxila, em dose equivalente a 10 tubetes de 1,8 mL (90 μ g/Kg).

PESO (g)	T E M P O					
	0	30	60	120	180	240
291	212	302	216	203	230	319
297	338	282	262	245	279	305
295	139	203	189	266	243	231
272	406	464	440	397	471	500
293	148	252	255	249	250	292
231	206	297	282	279	328	363
283	423	391	427	376	357	434
265	326	343	320	334	413	500
283	201	276	284	324	369	382
295	137	154	142	129	160	191

Tabela 8 - Determinações da glicose sangüínea em ratos diabéticos onde administrou-se cloridrato de Lidocaina 2% com noradrenalina 1:50.000 na região posterior da maxila, em dose equivalente a 10 tubetes de 1,8 mL (360 μ g/Kg).

PESO (g)	T E M P O					
	0	30	60	120	180	240
265	141	144	132	136	168	175
235	373	419	392	377	358	376
244	206	252	252	255	319	317
277	362	381	358	383	427	395
267	365	356	355	400	377	412
283	213	272	256	264	296	315
256	226	265	267	328	346	387
248	264	317	261	239	282	292
247	196	192	212	244	313	309
238	180	206	254	296	321	376

ANEXO 2

Características e princípios do Sistema Reflolux[®] II M e Haemo-Glukotest[®] 20-800 R.

Sistema Reflolux[®] II M

Breves características sobre o sistema de determinação da glicemia.

PRINCIPIO DE DETERMINAÇÃO:

Reflolux[®] II M é um fotômetro de reflexão para determinação da glicemia de 10 - 500 mg/dL (0,5 - 27,7 mmol/L). É um instrumento portátil e independente da rede elétrica, funcionando com pilha.

Sobre a zona de teste do Haemo-Glukotest[®] 20-800 R (BM-Test-glycemil 20-800 R) aplica-se uma gota de sangue capilar recentemente obtida cujo excesso é removido ao término de 60 segundos. Depois de outros 60 segundos determina-se a intensidade de cor da tira reativa no fotômetro de reflexão Reflolux[®] II M.

O Reflolux[®] II M trabalha com um sistema óptico de duplo feixe que pode avaliar simultaneamente ambas as áreas da zona de teste, que oferece grande confiabilidade através de um amplo intervalo de leitura.

Todas as informações necessárias para se determinar quantitativamente a glicose sangüínea são determinadas especificamente para cada lote de tiras reativas e encontram-se codificadas na tira de código que está incluída em cada recipiente de tiras reativas. Mediante uma memória incorporada ao Reflolux[®] II M somente é necessária uma única codificação do aparelho ao abrir um novo recipiente de tiras reativas. As informações permanecem armazenadas no aparelho para todas as posteriores determinações com tiras reativas do mesmo recipiente.

DADOS TECNICOS

Modelo : Reflolux[®] II M
Dimensões : 149 x 79 x 22 mm
Peso com pilha : 190 g
Intervalo de Medição : 10-500 mg/dL (0,5-27,7 mmol/L)
Longitude de onda : 950 nm (infravermelho)
Corrente : pilha 6 volt, I EC 7K67
Capacidade de memória : 30 valores de glicemia.

HAEMO - GLUKOTEST® 20-800 R

CARACTERISTICAS E PRINCIPIO DO TESTE:

A Haemo-glucotest® 20-800 R é uma tira reativa para a determinação semi-quantitativa específica de glicose em sangue capilar da ponta do dedo ou do lóbulo da orelha. A zona de teste está constituída por duas áreas com diferente sensibilidade à glicose, facilitando assim um intervalo de leitura de 20 a 800 mg/dL. Pelo manejo simples, o resultado fica disponível em 2 a 3 minutos. O Haemo-glukotest® 20-800 R é um sistema diagnóstico apropriado para os casos de resultados rápidos sobre o nível de glicemia.

A determinação de glicose com Haemo-glukotest® 20-800 R se baseia na reação específica de glicooxidase-peroxidase. Em presença de água a β -D-glicose se oxida pelo oxigênio do ar, diminuindo a catálise da glicoseoxidase (GOD) e levando a formação de δ -D-gliconolactona:



O peróxido de hidrogênio que se forma neste processo oxida os indicadores e diminui a catálise da peroxidase (POD), formando corantes.



No Haemo-glukotest® 20-800 R os reativos estão contidos na respectiva capa de plástico das áreas de teste. O volume de líquido que se difunde nestas áreas é dosado pelo espessor da capa. A quantidade de glicose que se difunde depende unicamente da sua concentração na gota de sangue e não da dimensão da gota.