

AMADO LEONÍSIO DE AZEVEDO

INFLUÊNCIA DA VARIACÃO DO PH DE ANESTÉSICOS
PARCIAIS, EM FUNÇÃO DA OXIGENAÇÃO TECIDUAL,
TECIDO HEPÁTICO DE COBAIOS (*Cavia porcellus*).

Tese apresentada ao concurso de Docência Livre para a Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica, do Departamento de Medicina Oral, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas.

PIRACICABA

1980

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Carinhosamente dedico
este trabalho a:

Dete

Mara

e

Alencar,

meus pais,

meus irmãos.

"Para chegar até aqui, não vim sozinho. Tantos me ajudaram a talhar na pedra os degraus por onde subi e o corrimão de braços generosos onde me apoiei. Sem eles o que teria feito?

Não caberia destacar nesta página todos os nomes. Dificilmente poderemos avaliar na justa medida o papel que alguém desempenhou em nossa carreira. Às vezes, as mais ínfimas figuras, às quais, de plena consciência, pouco concedemos, são essas que, pelos obscuros caminhos da alma, nos serviram mais. O meu desejo era poder dizê-los todos, pormenorizando ainda, o que a cada um devo. Faria, entretanto, uma lista interminável, e mesmo assim, parcial, porque não incluiria aqueles que me beneficiaram sem que eu o soubesse. Do rol preciosíssimo gravado na memória em letras indelévels, vou, contudo, mesmo praticando injustiça, nestes agradecimentos omitir alguns nomes"

- Liberalli -

Agradeço a:

Ao Professor Doutor

ANTONIO CARLOS NEDER

Digníssimo Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba e Professor Titular da Área de Farmacologia, Terapêutica e Anestesiologia.

A quem devemos o amparo e a tranqüilidade na hora certa, e sobretudo pela maneira humana em encarar nossas limitações, encorajando-nos a vencer entraves e dificuldades, ampliando nossos horizontes, nosso perene agradecimento.

AGRADECIMENTOS -

Ao Prof. Dr. PLÍNIO ALVES DE MORAES, Magnífico Reitor da (UNICAMP), pelo estímulo e recursos materiais imprescindíveis àqueles que se dedicam ao ensino e pesquisa, pela amizade que nos dedica.

Ao Prof. Dr. Luiz Valdrighi, Diretor Associado da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela amizade e colaboração que sempre nos dedicou.

À Prof^a. Dra. Sonia Vieira, Professora de Bioestatística do Departamento de Odontologia Social da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (UNICAMP), pela colaboração efetiva na execução da análise estatística.

Aos Professores da Área de Farmacologia e Terapêutica - Jonas Vaz de Arruda, Maria de Lourdes Garboggine Gama, Samir Tufic Arbex, Thales Rocha Mattos Filho, José Ranalli, Eduardo Dias de Andrade, João Leonel José pelas valiosas colaborações na feitura deste trabalho.

Aos. Profs. Drs. Pedro Bertoline, William Sahade,
Renato Roberto Biral, Tereza de Lourdes
Scarpari Barrichello

À Profª Waded Antonio, Professora de Português
do Colégio Barão do Rio Branco, pela correção do vernáculo.

Aos Funcionários desta casa:

À Sra. Sonia Maria Aparecida Simionato
Victória, pela sua colaboração na elaboração deste trabalho.

À Sra. Ivany do Carmo Guidolin Gerola, pela correção das referências bibliográficas.

À Sra. Dirce Cristal, pela sua colaboração na fase experimental deste trabalho.

Ao Sr. Moises José Maria da Silva, pelos cuidados e tratamentos aos animais.

À Srta. Maria de Fátima de Souza Dantas, pela realização dos gráficos do presente trabalho.

Ao Sr. Sebastião Rodrigues de Barros, pela impressão.

Ao Sr. Adário Cangiani, pela colaboração.

À Srta. Margarida Amaral de Souza, pelos seus méritos datilográficos deste trabalho.

Ao Sr. Mário Ricardo Tegen, Chefe da oficina de carpintaria.

* *

Aos funcionários desta casa:

Meus ex-colegas de profissão, operários do anonimato, mas sem os quais jamais poderíamos realizar condignamente nossa missão. Homens, cujo labor dignifica uma classe. Seu trabalho, ainda que não avaliado por aqueles que lhes são estranhos, longe está de ser reconhecido na sua justa medida.

- minhas homenagens -

Í N D I C E

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO..... 2

CAPÍTULO II

PROPOSIÇÃO..... 6

CAPÍTULO III

REVISTA DA BIBLIOGRAFIA..... 8

CAPÍTULO IV

MATERIAL E MÉTODO.....19

CAPÍTULO V

RESULTADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICAS.....31

CAPÍTULO VI

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....50

CAPÍTULO VII

CONCLUSÕES.....60

CAPÍTULO VIII

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....62

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

A história da anestesia se inicia no dia 10 de dezembro de 1844, com a fracassada apresentação do cirurgião dentista Horace Wells, com a intenção de produzir analgesia em pacientes com óxido de nitrogênio, conhecido naquela época como gás hilariante, insucesso esse resultante da ineficácia de anestésicos em indivíduos dados ao vício de embriaguez.

Dois anos mais tarde, ou seja, a 16 de outubro de 1846, Dr. Morton, discípulo do Dr. Wells, realiza a primeira demonstração em meios científicos da eficácia do referido gás, como substância capaz de produzir analgesia.

Em 1860, o Dr. Albert Nieman, conhecendo as propriedades analgésicas do macerado de uma planta conhecida por "Erithroxylon coca", isolou o princípio ativo ao qual deu o nome de coca e que mais tarde recebeu o nome de cocaína.

A análise dessa substância permitiu que W. Losseen, em 1862, determinasse sua fórmula bruta $C_{17}H_{21}NO_4$.

Entretanto a introdução da cocaína como anestésico local em Odontologia, segundo GOODMAN & GILMAN (1973), coube a Hall em 1844.

Desde a descoberta da cocaína como anestésico local, várias substâncias naturais e sintéticas foram introduzidas no rol do uso Odontológico.

Entretanto, é de conhecimento geral que os anestésicos empregados em Odontologia e Medicina não preenchem "in totum" os requisitos de biocompatibilidade e efetividade formulados por GOODMAN & GILMAN (1973) que são apresentados a seguir:

- a) Não ser irritante para os tecidos nem causar le são permanente às estruturas nervosas.
- b) Ser de baixa toxicidade sistêmica e local.
- c) Ser eficaz em baixa concentração.
- d) Curto período de latência.
- e) Tempo de ação pertinente aos trabalhos operatórios.

Isto fez com que alguns estudiosos propusessem modificações que pudessem diminuir efeitos tóxicos e melhorar a eficácia dessas substâncias. Outros apenas chamaram a atenção para a

ocorrência de efeitos colaterais indesejáveis.

WARREN et al. (1974) chamaram a atenção para o cuidado em intervenções que necessitam de grandes doses de prilocaína (20 ml ou mais) que podem induzir a uma metahemoglobinemia. Em caso de mulher grávida, este efeito colateral pode ocorrer também no embrião.

NEDER & GAMA, em 1976, comparando o efeito da lidocaína pH 4,5 e pH 7,4, verificaram que a última solução produz um efeito anestésico melhor em tecidos inflamados, comparado à lidocaína a um pH 4,5.

BENOIT (1978) registrou alterações morfológicas em fibras musculares em ratos, resultantes da ação de lidocaína com norepinefrina.

Visando ao desenvolvimento de um trabalho que pudesse contribuir para ampliar o conhecimento dos efeitos tóxicos dos anestésicos locais, propusemo-nos a fazer algumas observações "in vitro".

PROPOSIÇÃO

O presente trabalho tem por objetivo verificar quantitativamente os efeitos da respiração de tecido hepático de cobaias (*Cavia porcellus*) "In vitro" nas seguintes condições de tratamentos.

- 1) lidocaína com norepinefrina em pH 4,5 e pH 7,4
- 2) lidocaína sem norepinefrina em pH 4,5 e pH 7,4
- 3) prilocaína com felilpressina em pH 4,5 e pH 7,4
- 4) prilocaína sem felilpressina em pH 4,5 e pH 7,4

PROPOSIÇÃO

REVISTA DA BIBLIOGRAFIA

REVISTA DA BIBLIOGRAFIA

Ao realizarmos a consulta bibliográfica, verificamos um grande número de trabalhos referentes ao consumo de oxigênio, por meio de técnicas respirométricas, desenvolvidas "in vitro". Entretanto, em sua maioria os autores referem-se ao consumo endógeno em vários tecidos. Assim, RABENO (1925), HAMBURGER (1926), QUASTEL & SHEATHEY (1932) ELLIOT & HENRY (1946), GLICKMAN et alli (1949), GLICKMAN et alli (1950), FLIEDER & FISHER (1955), DIXON & MEYER (1936), MATSUMOTO (1952), FISHER et alli (1957), KOZAM & BURNETT (1958), VRBA & FOLBERG (1958), FISHER et alli (1959), MANHOLD & BOLDEN (1960), VOLPE E MANHOLD (1962), NORMAN et alli (1963), MANHOLD & VOLPE (1963), SKOLNIK et alli (1966), FISHER (1967), LAINSON & FISHER (1968) FISHER & SCHWABE (1969), MANHOLD et alli (1969), MATSUMOTO et alli (1969), BERGQUIST et alli (1970) SHALLA & FISHER (1970), estudaram o consumo de oxigênio endógeno em diversos tecidos (polpa dental, mucosa alveolar, rim, fígado, cérebro) de seres humanos e de animais. Utilizaram para estes trabalhos a técnica de Warburg, com ou sem modificações

e, como meio de suspensão, a solução tampão Krebs-Ringer-fosfato.

Em 1927, COMEL estudou a ação do pH sobre trocas gasosas por extrato de músculos e verificou uma diminuição da respiração com a diminuição do pH. Os resultados obtidos foram função de diferentes proporções de Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , H_3PO_4 , ácido cítrico e Na_3PO_4 . A respiração diminuiu acentuadamente quando o pH se situou em redor de pH 5,0.

KISCH (1935) estudou a influência do pH sobre a atividade respiratória de diferentes tecidos. Para o tecido de rato o melhor pH foi de 7,2 a 7,5, para tecido bovino, pH 7,2, para tecido de gato, pH 7,5.

CANZANELLI et al (1939) estudaram o consumo do oxigênio de fígado, cérebro, rim e testículos, de cobaias "in vitro" sob a ação de diferentes níveis de pH. Observaram que o QO_2 do cérebro aumentou quando o meio se tornou mais alcalino, estando o pH, por volta de 9,0, entretanto o fígado, rim e testículos pararam a respiração nesta faixa de pH.

FISHER et al (1957), usando a técnica de Warburg e como meio de suspensão a solução tam-

pão Krebs-Ringer.fosfato pH 7,4, verificaram que o consumo do oxigênio em polpa dental de bovinos tratada com adrenalina apresentava um $QO_2 = 0,34 \pm 0,24$.

Em 1967, EUGENIA et al, estudando a influência do pH na respiração de fatias de tecido cerebral de ratos registraram que o pH 7,4 foi o que proporcionou melhor respiração.

KOZAM & BURNETT (1960) estudaram os efeitos dos anestésicos locais (procaína, lidocaína e prilocaína) em tecido pulpar de ratos. Para esse trabalho usaram seis ratos machos, albinos, sacrificados por decapitação. Imediatamente ao sacrifício, o tecido pulpar foi cuidadosamente retirado dos canais radiculares e colocado em uma solução tampão Krebs-Ringer-fosfato pH 7,44, com uma temperatura de 15°C. Nestas condições o material permaneceu até o momento de ser posto sob ação dos anestésicos. A técnica adotada foi o método de Warburg com modificações. Os anestésicos procaína, lidocaína e prilocaína foram usados nas concentrações de 2,4 e 6%.

Foram usados 2,80ml de solução Krebs Ringer-fosfato à temperatura de 38°C. e a um pH 7,44.

nio foi obtido pela diferença entre as duas leituras e comparadas ao grupo controle.

Como resultado, verificaram que o efeito depressivo da respiração pulpar só se verificou quando a concentração do anestésico foi superior a 4%. Verificaram também, que a lidocaína, quando comparada à procaína, tem maior poder de inibição respiratória dos tecidos em estudo.

Na discussão os autores comentam que: o metabolismo celular, na fase oxidativa, depende dos enzimas catalíticos e, quando essas ações podem ser inibidas por uma substância tóxica, podem-se obter informações sobre a função do metabolismo celular e a ação específica dessa substância. Consequentemente, se os anestésicos inibem o metabolismo oxidativo dos tecidos da polpa, o seu estudo fornece indicações da forma como essas substâncias estão sendo tóxicas.

Também COOK e MC DEVITT (1945) relataram que a procaína deprime a atividade respiratória das leveduras e tecidos de fígado de ratos, de pressão essa proporcional às concentrações.

Comentam ainda que a lidocaína e a prilocaína causam depressão, mas não inibem o con-

sumo de oxigênio pelos tecidos. Afirmam também que em baixa concentração não há diferenças significativas na ação depressiva dos anestésicos. Entretanto, pode haver uma correlação entre o decréscimo do consumo de oxigênio dos tecidos e sua eficácia.

FISHER & SCHWABE em (1962) estudaram a polpa dental de bovinos tratadas com procaína. Usaram a técnica de Warburg. Como meio de suspensão empregaram a solução Krebs-Ringer-fosfato pH 7,4, e como fase gasosa o oxigênio. O método foi o direto e a temperatura 38°C.

As soluções testadas foram as de procaína nas seguintes concentrações: 0,25, 0,50, 1,0, 2,0 e 4,0%; distribuíram esse material em cinco séries do experimento.

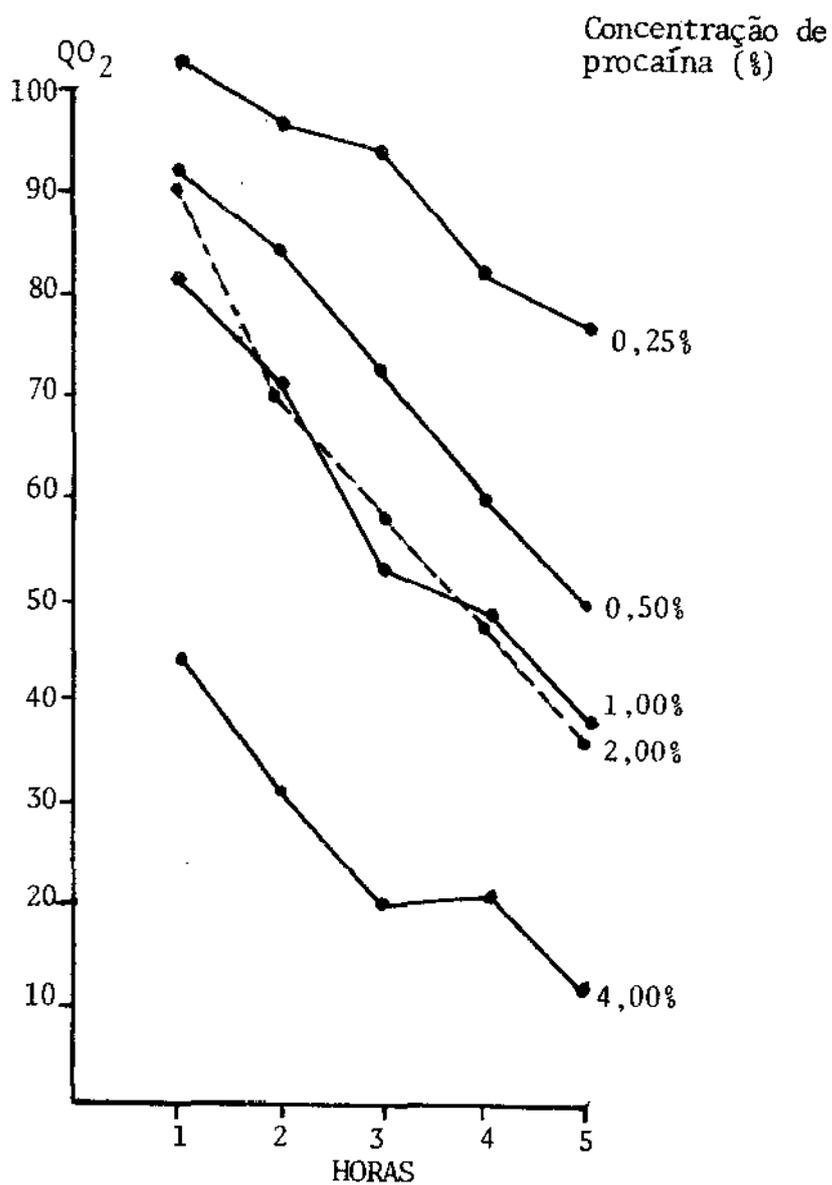
As leituras foram feitas em intervalos de uma hora, por um período de cinco horas.

Após as leituras, o material foi colocado em papel de alumínio e levado à estufa por vinte e quatro horas à temperatura de 105°C. O QO_2 calculado em (ul/mg/h). Os resultados foram expressos em tabelas e gráficos (reproduzidos em seguida) onde mostram que as concentrações de 1 e 2% não

apresentaram diferenças na primeira e terceira horas. Pequenas diferenças foram observadas na segunda, quarta e quinta hora. Concluíram que o grau de depressão na atividade respiratória nos tecidos se verifica com o aumento da concentração da procaína.

TABELA 1 - Efeito do cloridrato de procaína no consumo de oxigênio de polpa dental bovina.

Concentração de Procaína	Nº de		1ª hora	2ª hora	3ª hora	4ª hora	5ª hora
0,25	16	Mean	99,5	94,6	91,2	79,8	75,1
		S.D.	50,6	21,3	28,3	12,8	25,8
0,50	24	Mean	92,8	80,0	69,1	56,9	46,7
		S.D.	29,1	21,9	19,4	12,3	18,0
1,00	23	Mean	75,0	64,9	48,9	44,0	33,9
		S.D.	24,6	20,6	17,2	12,7	18,1
2,00	24	Mean	75,2	58,7	48,8	39,3	29,9
		S.D.	32,7	28,7	18,1	16,1	13,7
4,00	23	Mean	32,0	22,1	14,2	14,8	7,9
		S.D.	23,5	12,6	10,8	10,6	5,4



Efeito da procaína no consumo de oxigênio em polpa dental bovina.

ROCKERT (1978) estudou o efeito dos anestésicos locais lidocaína e prilocaína sobre a atividade respiratória de polpa dental de incisivos de ratos "In vitro". Para esse trabalho o autor utilizou -se do respirômetro de Gilson (modificação da técnica de Warburg).

Usou polpa dental de ratos que foram sacrificados por decapitação. Logo ao abate o material foi colhido e colocado em meio de suspensão, cuja composição foi a seguinte:

HCl	35mM
NaPO ₄	5mM
NaCl	120mM
KCl	5mM
Glucose	20mM
Leucina	0,5mM
MgCl	2,5mM

Os anestésicos usados foram a lidocaína e a prilocaína, nas seguintes concentrações: 2,5%, 5%, 10% e 20%.

O autor organizou quatro séries com oito tratamentos:

1º) grupo lidocaína a 2,5% com adrenalina

prilocaína a 2,5% com felilpressina

2º) grupo lidocaína a 5% com adrenalina

lidocaína a 5%

prilocaína a 5% com felilpressina

prilocaína a 5%

3º) grupo prilocaína a 10%

4º) grupo lidocaína a 20%

Em todos os grupos que sofreram tratamentos com anestésicos, o número de animais foi de seis, com exceção do grupo cuja concentração foi de 20%, onde o número de animais foi = nove. O grupo controle constou de onze animais.

O autor concluiu que nas concentrações até 2,5% não houve efeito depressivo na respiração do tecido pulpar, entretanto em concentrações superiores a 5%, os anestésicos provocam um efeito depressivo na atividade respiratória dos referidos tecidos.

MATERIAL E MÉTODO

MATERIAL E MÉTODO

Utilizamos, no presente trabalho, tecidos hepáticos de cobaias (*cavia porcellus*), com idade de seis a sete meses, fornecidos pelo biotério da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (UNICAMP)

Para formar um grupo mais homogêneo possível, os animais foram selecionados quanto: à idade, peso e estado físico.

Esses animais foram sacrificados por decapitação, a fim de evitar reações defensivas que induzissem a modificações metabólicas.

Imediatamente ao abate fazia-se uma laparotomia, expondo as vísceras e isolando-se o fígado, e, logo em seguida, o material era colhido sempre do lobo anterior direito.

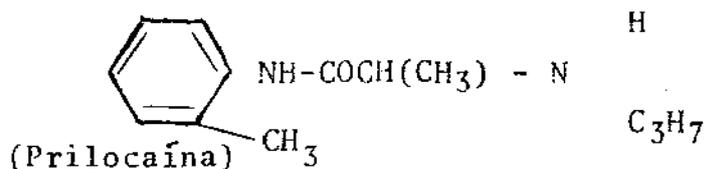
DROGAS E SOLUÇÕES UTILIZADAS

Drogas

Os anestésicos empregados foram escolhidos baseando-se nos seguintes critérios:

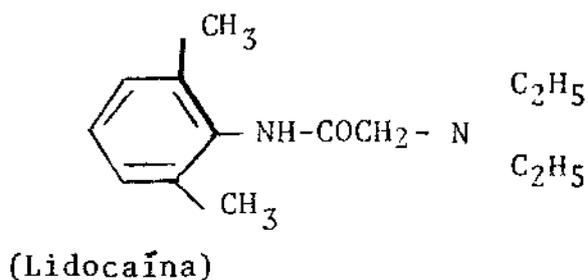
a) Utilização pelos profissionais no campo odontológico.

b) Semelhança química.



PRILOCAÍNA: N-(2-Metilfenil)-2-(propilamina)-propa
namida (Citaneste (R)) em solução a 3%
com felilpressina 0,3UI/ml.

PRILOCAÍNA: N-(2-Metilfenil)-2-(propilamina)-propa
namida a 4%



LIDOCAÍNA: 2-(Dimetilamina)-N-(2,6-dimetilfenil) a-
cetamida (Xylocaína(R)) a 2% com norepi-
nefrina a 150.000

LIDOCAÍNA: 2-(Dimetilamina)-N-(2,6-dimetilfenil) a-
cetamida (Xylocaína(R)) a 2%

ARGININA (merck) a 1 M.

HIDRÓXIDO DE POTÁSSIO a 20%
GLICOSE a 20uM/ml.

Obtenção da Prilocaína e da Lidocaína a um nível de pH 7,4.

Os anestésicos são bases fracas, entretanto suas soluções sob a forma de sais são bastante ácidas, cujo pH oscila entre 3,3 até 4,6, para aumentar a sua estabilidade, assim como de qualquer substância vasoconstritora que os acompanha. (GOODMAN & GILMAN, 1975).

Para obtenção da prilocaína e lidocaína a um nível de pH 7,4 fez-se um ajuste com arginina 0,1 M.

Soluções utilizadas

soro fisiológico

Solução Tampão Krebs-Ringer-fosfato pH 7,4

Solução Tampão Krebs-Ringer-fosfato modificada a um pH 4,5

Obtenção da solução tampão Krebs-Ringer-fosfato pH 4,5.

A solução tampão Krebs-Ringer-fosfato modificada é semelhante à solução Krebs-Ringer-fosfato pH 7,4 com a diferença do pH que foi ajustado para um nível de pH 4,5 com adição do tampão fosfato 0,1 M pH 4,5. Com esse procedimento, foi aumentada ligeiramente a quantidade de íons Cl^- , que não é crítica para a atividade celular, uma vez que a solução tampão Krebs-Ringer-fosfato tem uma concentração de íons Cl^- , vinte por cento mais alta do que a do soro de mamíferos (DAWSON (1959)).

Obtenção das fatias de tecido hepático

Imediatamente após a obtenção do material, tomou-se o cuidado de mantê-lo sempre mergulhado em soro fisiológico a baixa temperatura para inibir as reações enzimáticas que pudessem ocorrer paralelamente aos passos necessários à técnica de Warburg. Sob essas condições, o tecido foi cortado com tesoura conforme o método usado por PAUL (1961), AYRES (1965) SAHADE (1970), lavado por três vezes com soro fisiológico a baixa temperatura, com o intuito de remover o maior número possível de hemácias.

A quantidade de tecido utilizada foi

(0,70ml, mais ou menos 500mg massa úmida, quantidade recomendada por FISHER (1973), medidas em colheres perfuradas, de plástico; para remoção do soro fisiológico remanescente.

Respirometria

O experimento foi realizado pela técnica de Warburg (método direto) a 37°C, com agitação de 80 ciclos por minuto. Como fase gasosa foi usado o ar atmosférico.

Composição genérica dos esquemas do experimento

Cada tratamento continha o volume de 3,60ml estabelecido da seguinte forma:

Volume solução tampão Krebs-Ringer-fosfato pH 4,5 ou 7,4	2,50ml
Volume de massa úmida de tecido hepático (fatias)	0,70ml
Volume de KOH	0,20ml
Volume de prilocaína com ou sem felilpressina ou lidocaína com ou sem norepinefrina ou glicose	<u>0,20ml</u>
Total	3,60ml

Foram montados dois sistemas, I e II, como segue:

SISTEMA I

Constou de seis tratamentos, sendo que o meio de suspensão utilizado foi a solução tampão Krebs-Ringer-fosfato pH 4,5.

Tratamento um - Endógeno -

Solução tampão Krebs-Ringer-fosfato	2,50ml
Fatias de tecido hepático	0,70ml
KOH	0,20ml
Solução Krebs-Ringer-fosfato	<u>0,20ml</u>
Total	3,60ml

Tratamento dois - Glicose -

Solução Krebs-Ringer-fosfato	2,50ml
Fatias de tecido hepático	0,70ml
KOH	0,20ml
Glicose	<u>0,20ml</u>
Total	3,60ml

Tratamento três - Lidocaína com norepinefrina -

Solução tampão Krebs-Ringer-fosfato	2,50ml
Fatias de tecido hepático	0,70ml
KOH	0,20ml
Lidocaína com norepinefrina	<u>0,20ml</u>
Total	3,60ml

Tratamento quatro - Lidocaína sem norepinefrina -

Solução tampão Krebs-Ringer-fosfato	2,50ml
Fatias de tecido hepático	0,70ml
KOH	0,20ml
Lidocaína sem norepinefrina	<u>0,20ml</u>
Total	3,60ml

Tratamento cinco - prilocaína com felilpressina -

Solução tampão Krebs-Ringer-fosfato	2,50ml
Fatias de tecido hepático	0,70ml
KOH	0,20ml
Prilocaína com felilpressina	<u>0,20ml</u>
Total	3,60ml

Tratamento seis - Prilocaína sem felilpressina -

Solução tampão Krebs-Ringer-fosfato	2,50ml
Fatias de tecido hepático	0,70ml
KOH	0,20ml
Prilocaína sem felilpressina	<u>0,20ml</u>
Total	3,60ml

SISTEMA II

O Sistema II constou de seis tratamentos, sendo que o meio de suspensão utilizado foi a solução tampão Krebs-Ringer-fosfato pH 7,4. A prilocaína com felilpressina ou sem felilpressina e a lidocaína com norepinefrina ou sem norepinefrina utilizadas neste sistema foram ajustadas a um nível de pH 7,4 com arginina 1 M.

Tratamento um - Endógeno -

Solução tampão Krebs-Ringer-fosfato	2,50ml
Fatias de tecido hepático	0,70ml
KOH	0,20ml
Solução tampão Krebs-Ringer-fosfato	<u>0,20ml</u>
Total	3,60ml

Tratamento dois - Glicose -

Solução tampão Krebs-Ringer-fosfato	2,50ml
Fatias de tecido hepático	0,70ml
KOH	0,20ml
Glicose	<u>0,20ml</u>
Total	3,60ml

Tratamento três - Lidocaína com norepinefrina -

Solução tampão Krebs-Ringer-fosfato	2,50ml
Fatias de tecido hepático	0,70ml
KOH	0,20ml
Lidocaína com norepinefrina	<u>0,20ml</u>
Total	3,60ml

Tratamento quatro - Lidocaína sem norepinefrina -

Solução tampão Krebs-Ringer-fosfato	2,50ml
Fatias de tecido hepático	0,70ml
KOH	0,20ml
Lidocaína sem norepinefrina	<u>0,20ml</u>
Total	3,60ml

Tratamento cinco - Prilocaína com felilpressina -

Solução tampão Krebs-Ringer-fosfato	2,50ml
Fatias de tecido hepático	0,70ml
KOH	0,20ml
Prilocaína com felilpressina	<u>0,20ml</u>
Total	3,60ml

Tratamento seis - Prilocaína sem felilpressina -

Solução tampão Krebs-Ringer-fosfato	2,50ml
Fatias de tecido hepático	0,70ml
KOH	0,20ml
Prilocaína sem felilpressina	<u>0,20ml</u>
Total	3,60ml

Foram feitas dezoito repetições nos dois sistemas. No final do experimento, obtivemos, portanto, dados relativos a dezoito leituras em cada um dos doze tratamentos.

Antes de serem feitas as leituras, tomamos o cuidado de fazer as determinações do pH inicial. As leituras manométricas foram feitas em intervalos de dez minutos durante duas horas.

As leituras de tempo Zero foram feitas sempre vinte minutos após a instalação dos sistemas e posto o aparelho em funcionamento, para homogeneização da temperatura e maior contato das fatias com o meio de suspensão.

Determinações sequenciais à Respirometria

Após duas horas de respirometria em Warburg, a cada tratamento foram realizadas as seguintes operações:

- a) retirada do papel de filtro embebido em KOH, por meio de pinça.
- b) lavagem do poço central com algodão estéril, embebido em água destilada.
- c) Determinação dos valores do pH finais no líquido sobrenadante (meio de suspensão).

- d) transferência do material para cadinho de porcelana previamente tarado.

Determinação da massa seca

Para a determinação da massa seca, o material contido no cadinho de porcelana foi mantido em estufa a 100°C, durante 48 horas, esfriado em dessecador e pesado em balança analítica.

RESULTADOS

RESULTADOS

O quociente entre o volume de oxigênio, em microlitros, consumidos pelo tecido e o respectivo peso seco, em microgramas, dá o consumo de oxigênio por unidade de peso seco, em cada tempo.

Os valores relativos aos sessenta minutos definem o QO_2 em seu sentido restrito (ul/mg/h). Nos demais tempos tais valores são entendidos como elasticidade de sentido, isto é, definem o QO_2 relativo a cada tempo, na tomada da respirometria.

Os valores médios de QO_2 relativos ao tecido hepático de cobaias, submetidos ou não à ação dos anestésicos lidocaína com norepinefrina ou sem norepinefrina e prilocaína com felilpressina ou sem felilpressina, nos níveis de pH 4,5 e pH 7,4, obtidos em intervalos de dez minutos, durante duas horas, estão apresentados na tabela nº 1, página 35.

Como o QO_2 é função do tempo decorrido após a tomada de respirometria, foram traçados os gráficos de nº 1 a 11, página 38 a 48.

Os dados apresentados na tabela 1 foram submetidos a uma análise de variância com dois critérios de classificação, isto é, tratamentos e tempos. Embora seja mais comum a comparação de médias de tratamentos duas a duas, através do teste de Tukey, neste trabalho optou-se pelo estudo de contrastes ortogonais de médias. Isso porque comparações de doze médias, duas a duas, redundariam em sessenta e seis diferenças de médias. Entretanto a finalidade principal do trabalho é a comparação da atividade respiratória de tecido hepático de cobaias no mesmo elemento, mas em dois níveis de pH. Os doze contrastes ortogonais possíveis, descritos no esquema nº 1, página 37, foram escolhidos de maneira a enfatizar, além das comparações entre os dois níveis de pH no mesmo elemento, alguns outros aspectos julgados de interesse.

A análise de variância, com os contrastes em testes, está apresentada na tabela 2, página 36.

Com base na análise de variância apresentada na tabela 2, podemos afirmar:

- i) Em média, o QO_2 relativo a endógeno é significativamente menor do que o QO_2 relativo

- a todos os demais elementos, ao nível de 1%.
- ii) O QO_2 relativo à glicose é, em média, significativamente menor do que os valores de QO_2 relativos aos anestésicos, ao nível de 1%.
 - iii) O QO_2 relativo à Prilocaína é, em média, maior do que o QO_2 relativo à Lidocaína, ao nível de 5% de significância.
 - iv) Não se observou diferença significativa entre médias de QO_2 , relativas à Lidocaína com vasonorepinefrina comparada à Lidocaína sem norepinefrina.
 - v) Em média, o QO_2 relativo à Prilocaína com felilpressina é maior do que o QO_2 relativo à prilocaína sem felilpressina, ao nível de 1% de significância.
 - vi) A comparação de médias de QO_2 , relativas a um mesmo elemento, mas em dois níveis de pH, mostrou que o QO_2 é significativamente maior quando o pH é 7,4 do que quando é 4,5, ao nível de 1%, ou seja:
 - vi-1) O QO_2 relativo ao pH 7,4, no endógeno, é, em média, maior do que o QO_2 relativo ao pH 4,5, ao nível de 1% de significância.

- vi-2) Para a glicose, o QO_2 relativo ao pH 7,4 é maior do que aquele relativo ao pH 4,5, considerando um nível de significância de 1%.
- vi-3) Para Lidocaína com Norepinefrina, o QO_2 relativo ao pH 7,4 é maior do que o relativo ao pH 4,5, considerando um nível de significância de 1%.
- vi-4) Para a Lidocaína sem vaso norepinefrina, o QO_2 relativo ao pH 7,4 é maior do que o relativo ao pH 4,5, considerado o nível de 1%.
- vi-5) Para a Prilocaína com felilpressina, o QO_2 relativo ao pH 7,4 é maior do que o relativo ao pH 4,5, considerando um nível de significância de 1%.
- vi-6) Para a Prilocaína sem felilpressina, o QO_2 relativo ao pH 7,4 é maior do que o relativo ao pH 4,5, considerado ao nível de 1%.

Prilocaina), obtidos em intervalos de 10 minutos durante 2 horas.

TEMPO	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
10	0,195	0,214	0,236	0,239	0,178	0,372	0,179	0,340	0,229	0,405	0,192	0,344
20	0,294	0,373	0,363	0,406	0,277	0,628	0,312	0,579	0,368	0,680	0,307	0,610
30	0,399	0,541	0,477	0,558	0,350	0,841	0,415	0,788	0,495	0,924	0,418	0,801
40	0,481	0,700	0,573	0,711	0,430	1,033	0,526	1,039	0,609	1,177	0,520	1,020
50	0,565	0,855	0,656	0,854	0,497	1,239	0,612	1,195	0,689	1,409	0,609	1,173
60	0,637	1,005	0,748	0,954	0,552	1,360	0,709	1,380	0,795	1,559	0,684	1,354
70	0,731	1,138	0,821	1,106	0,613	1,619	0,787	1,585	0,878	1,780	0,765	1,547
80	0,816	1,305	0,904	1,251	0,664	1,804	0,867	1,788	0,972	1,991	0,826	1,738
90	0,879	1,441	0,975	1,375	0,705	1,988	0,930	1,940	1,037	2,168	0,887	1,909
100	0,940	1,579	1,034	1,493	0,760	2,169	0,997	2,141	1,120	2,366	0,960	2,080
110	1,020	1,699	1,115	1,618	0,809	2,328	1,093	2,273	1,203	2,523	1,025	2,229
120	1,077	1,817	1,221	1,726	0,886	2,486	1,182	2,402	1,268	2,664	1,081	2,382
X	8,034	12,667	9,123	12,291	6,721	17,867	8,609	17,450	9,663	19,646	8,274	17,187
\bar{X}	0,6695	1,0555	0,7602	1,0242	0,5600	1,4889	0,7174	1,4541	0,8052	1,6371	0,6895	1,4322

A - endógeno pH 4,5
 B - endógeno pH 7,4
 C - glicose pH 4,5
 D - glicose pH 7,4
 E - lidocaína c/norepinefrina pH 4,5
 F - lidocaína c/norepinefrina pH 7,4

G - lidocaína sem norepinefrina pH 4,5
 H - lidocaína sem norepinefrina pH 7,4
 I - prilocaína com felilpressina..... pH 4,5
 J - prilocaína com felilpressina..... pH 7,4
 K - prilocaína sem felilpressina..... pH 4,5
 L - prilocaína sem felilpressina..... pH 7,4

TABELA 2 - Análise de variância relativa aos dados apresentados na tabela.

CAUSAS DE VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
T. Trats. vs Endógeno	1	0,813537	0,813537	22,17**
T. Trats. Anestésicos vs Glicose	1	0,755698	0,755698	20,59**
Lidocaína vs Prilocaina	1	0,177074	0,177074	4,82*
Lidoc. c/ Norepinef. vs Lidoc. s/ Norepinef.	1	0,045080	0,045080	1,23
Priloc. c/ Felilpres. vs Priloc. s/ Felilpres.	1	0,308481	0,308481	8,41**
Endógeno em diferentes pH	1	0,894362	0,894362	24,37**
Glicose em diferentes pH	1	0,418176	0,418176	11,39**
Lidoc. c/ Norepinef. em difs. pH	1	5,176388	5,176388	141,05**
Lidoc. s/ Norepinef. em difs. pH	1	3,256803	3,256803	88,74**
Priloc. c/ Felilpres. em difs. pH	1	4,152512	4,152512	113,15**
Priloc. s/ Felilpres. em difs. pH	1	3,310065	3,310065	90,19**
TRATAMENTOS	11	19,308176	1,755289	47,83*
TEMPOS	11	28,103290	2,554844	
RESÍDUO	121	4,440650	0,036699	
TOTAL	143	51,352116		

ESQUEMA 1 - Contrastes ortogonais de médias para a análise de variância.

	E _{4,5}	E _{7,4}	G _{4,5}	G _{7,4}	LV _{4,5}	LV _{7,4}	L _{4,5}	L _{7,4}	PV _{4,5}	PV _{7,4}	P _{4,5}	P _{7,4}	TOTAL
Todos vs Endógenos	-5	-5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+ 23,326
Anest. vs Glicose	0	0	-4	-4	+	+	+	+	+	+	+	+	+ 19,761
Lidoc. vs Priloc.	0	0	0	0	-	-	-	-	+	+	+	+	+ 4,123
LV vs L	0	0	0	0	-	-	+	+	0	0	0	0	+ 1,471
PV vs P	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	+	+	- 3,848
pH em Endógeno	-	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+ 4,633
pH em Glicose	0	0	-	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+ 3,168
pH em LV	0	0	0	0	-	+	0	0	0	0	0	0	+ 11,146
pH em L	0	0	0	0	0	0	-	+	0	0	0	0	+ 8,841
pH em PV	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+	0	0	+ 9,983
pH em P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+	+ 8,913

LV = Lidocaína 2%com Norepinefrina

L = Lidocaína 2%

PV = Prilocaina 3%com Felilpressina

P = Prilocaina 4%

E = Endógeno

G = Glicose

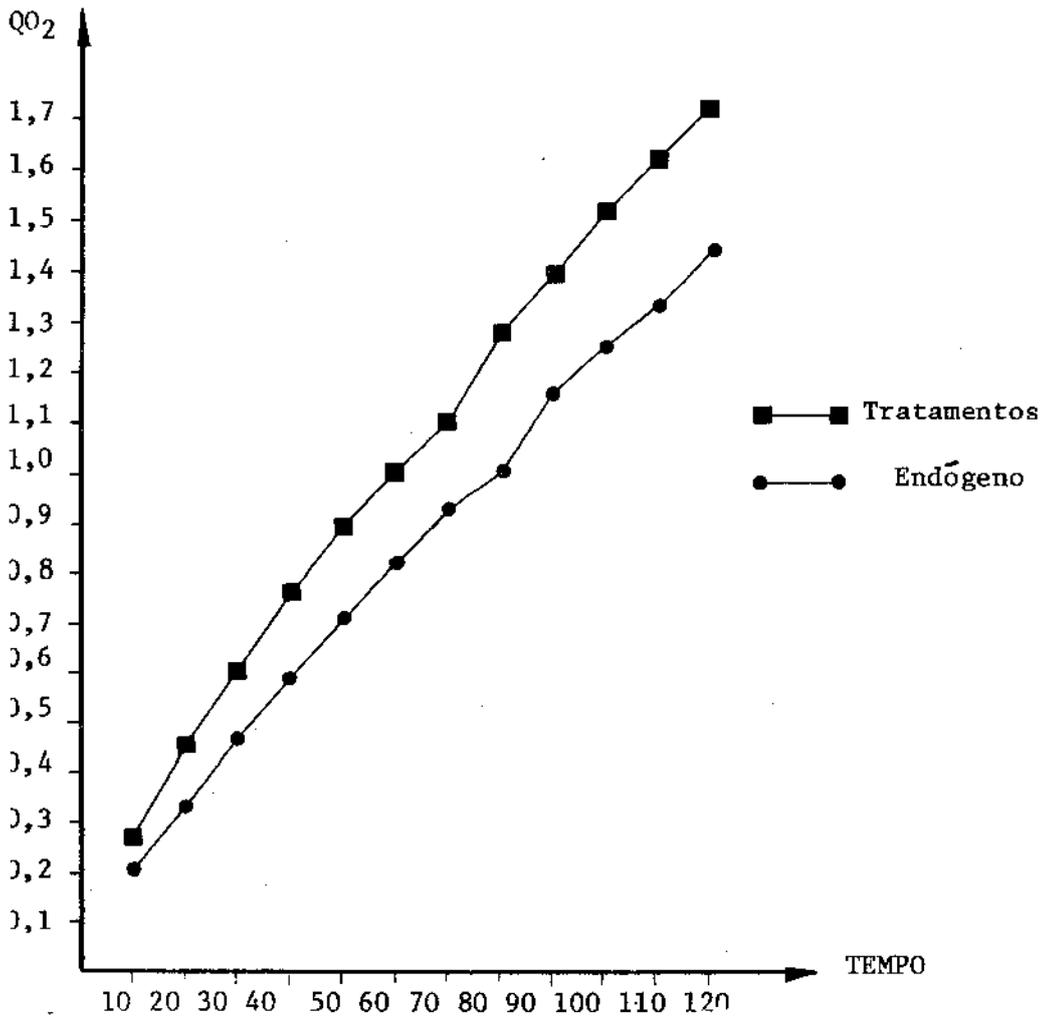


Figura 1 - Curvogramas relativos aos valores médios de QO₂ em função do tempo.

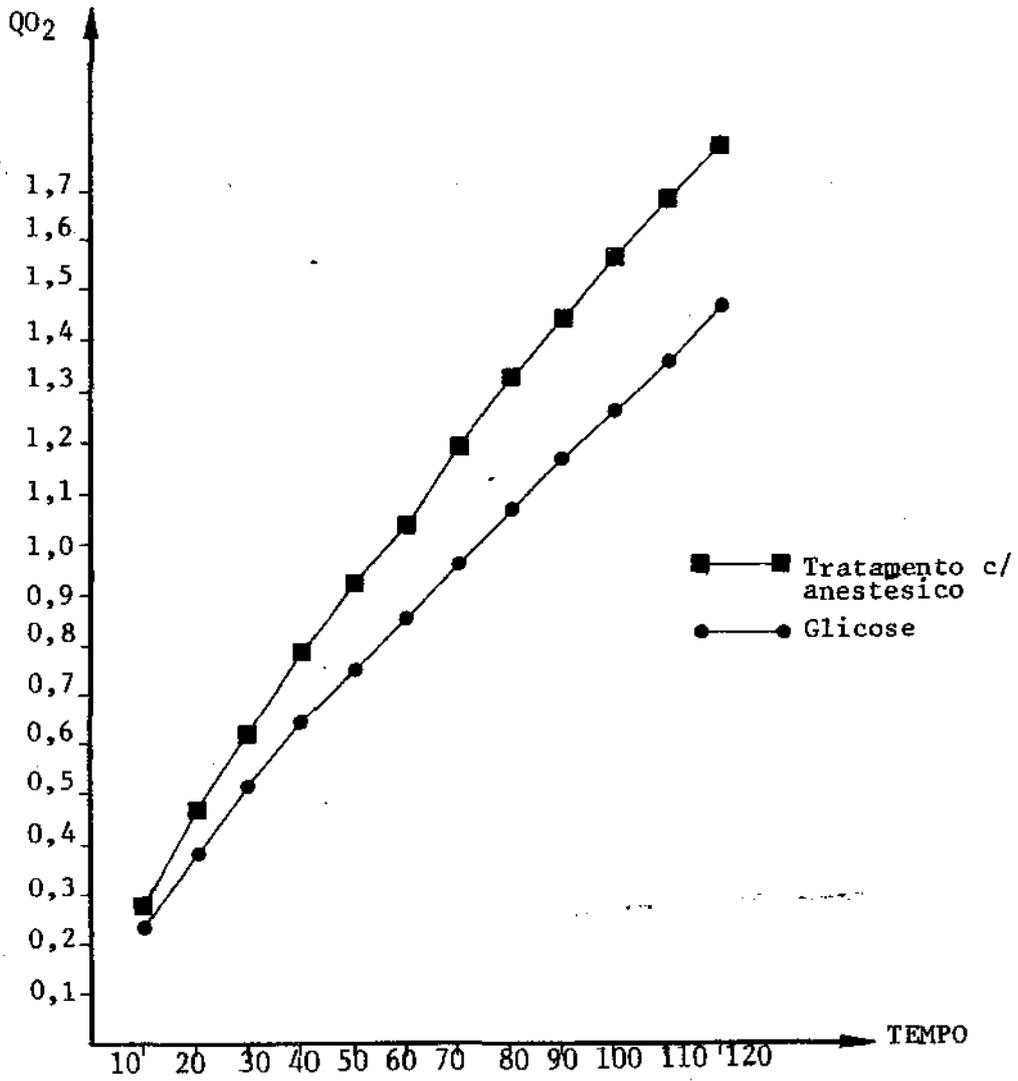


Figura 2 - Curvogramas relativos aos valores médios de QO₂ em função do tempo.

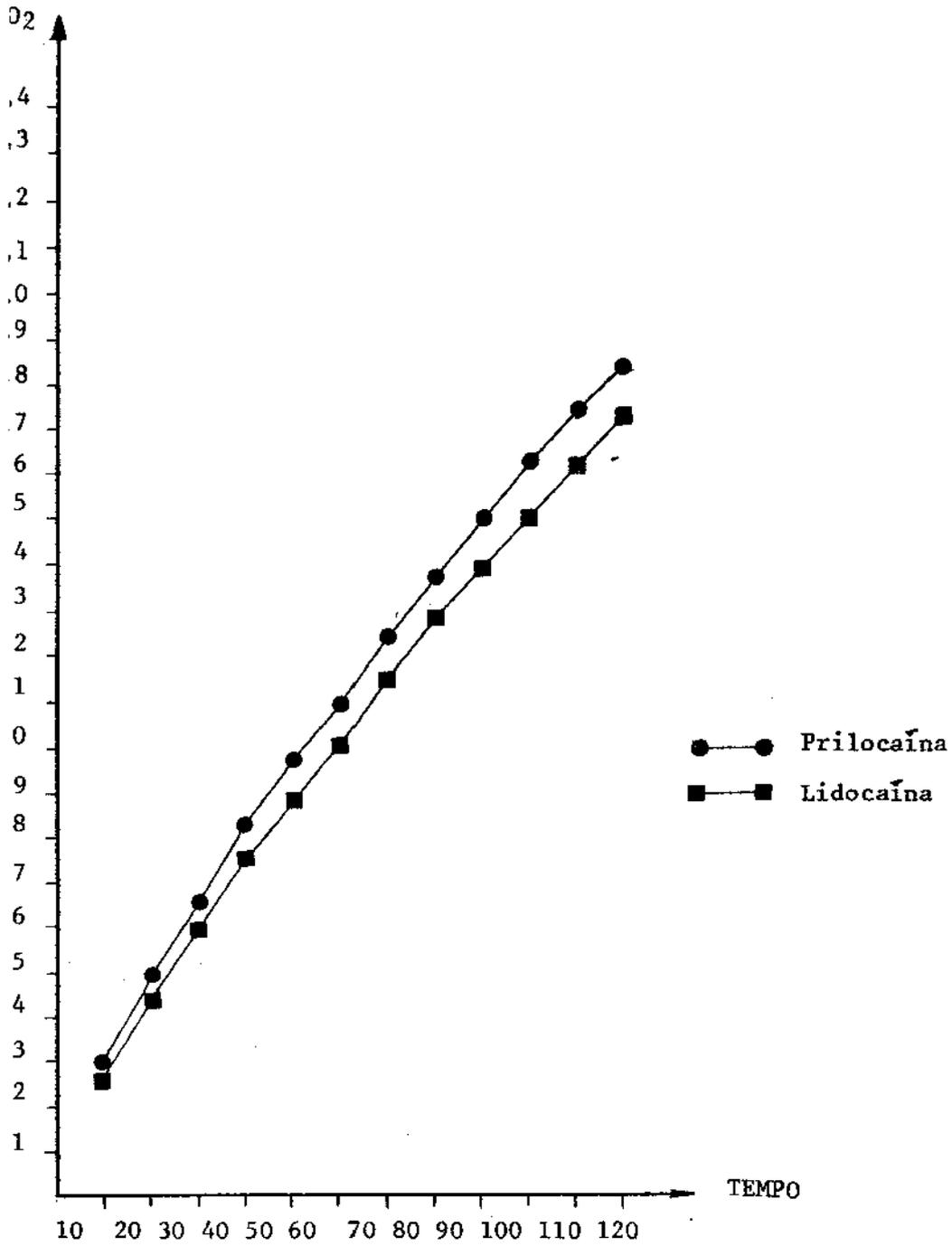


Figura 3 - Curvogramas relativos aos valores médios de QO_2 em função do tempo.

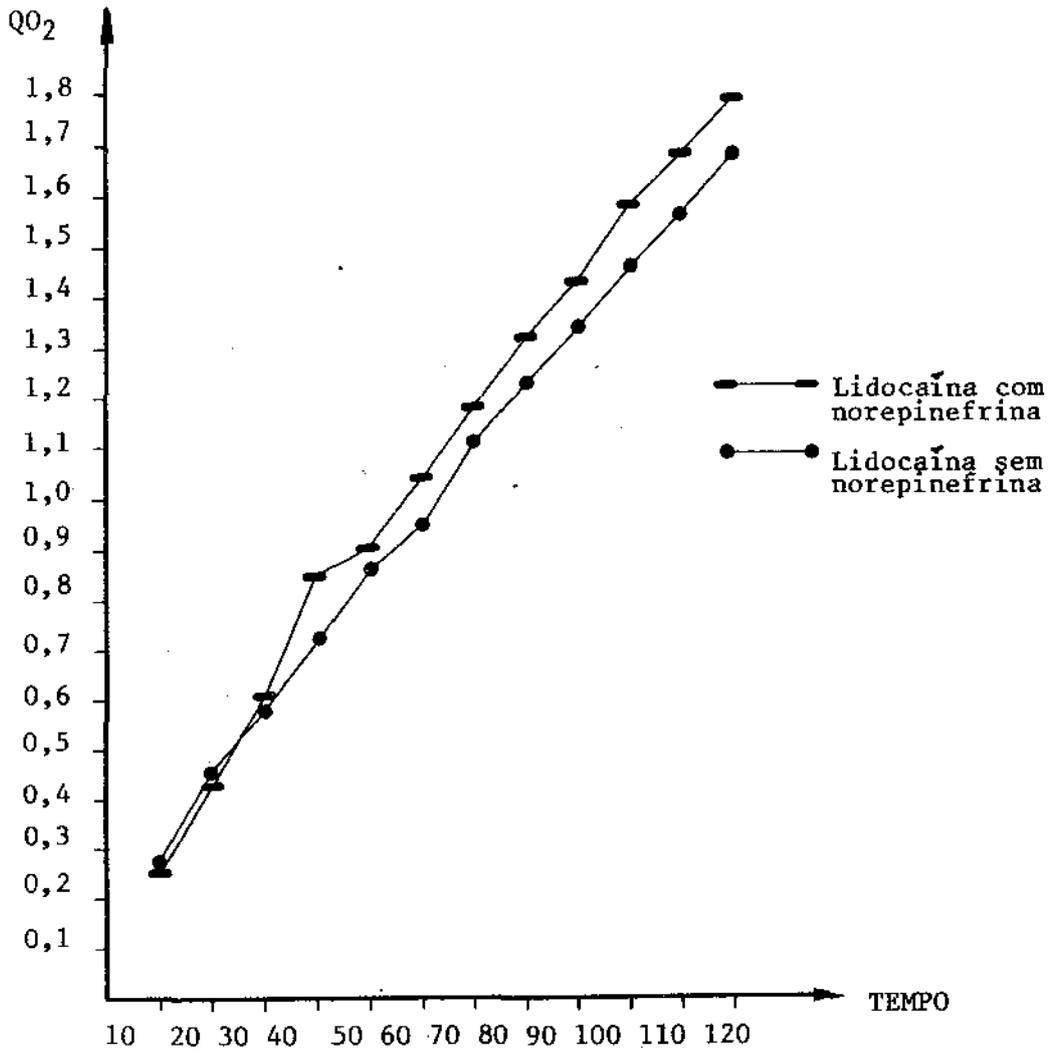


Figura 4 - Curvogramas relativos aos valores médios de QO_2 em função do tempo.

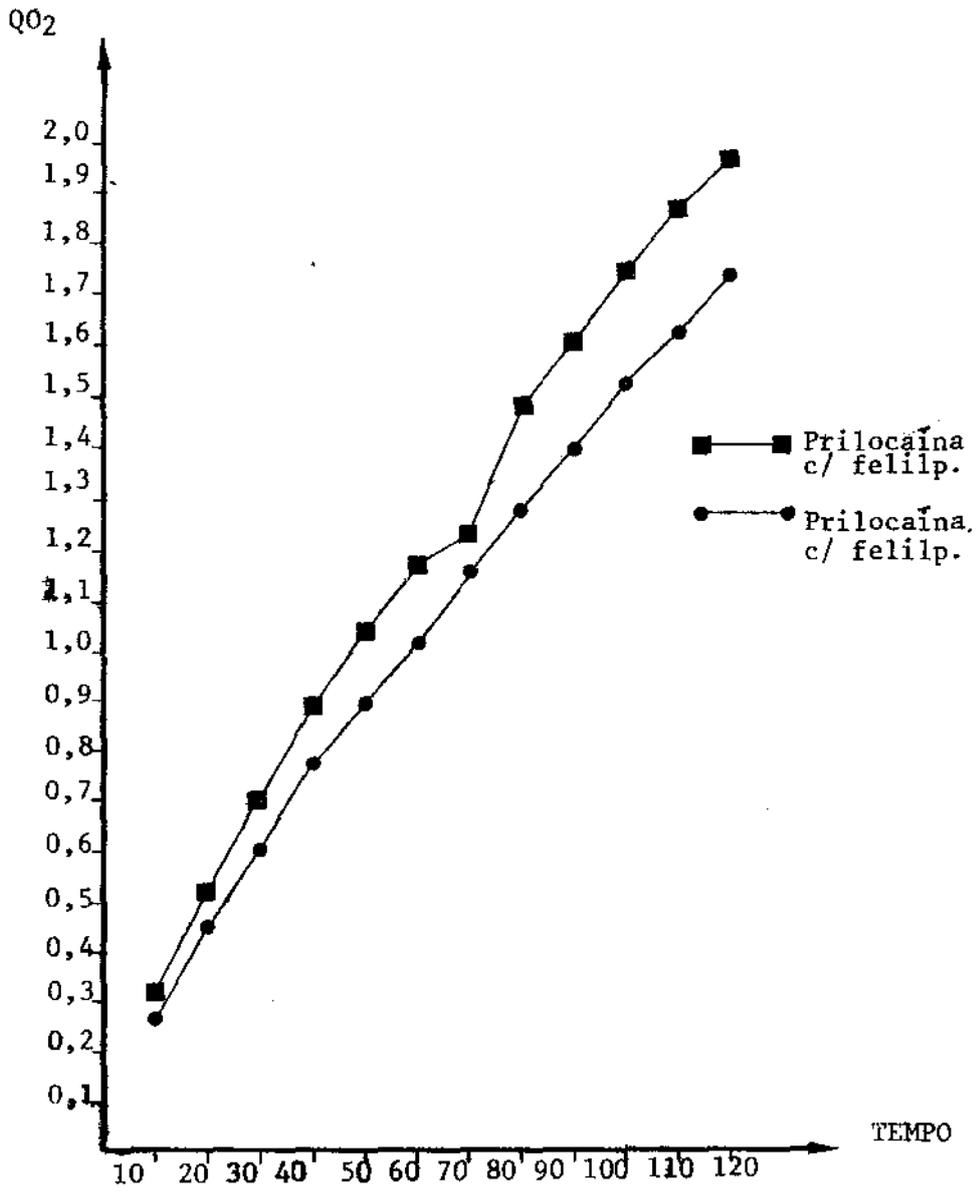


Figura 5 - Curvogramas relativos aos valores médios de QO_2 em função do tempo.

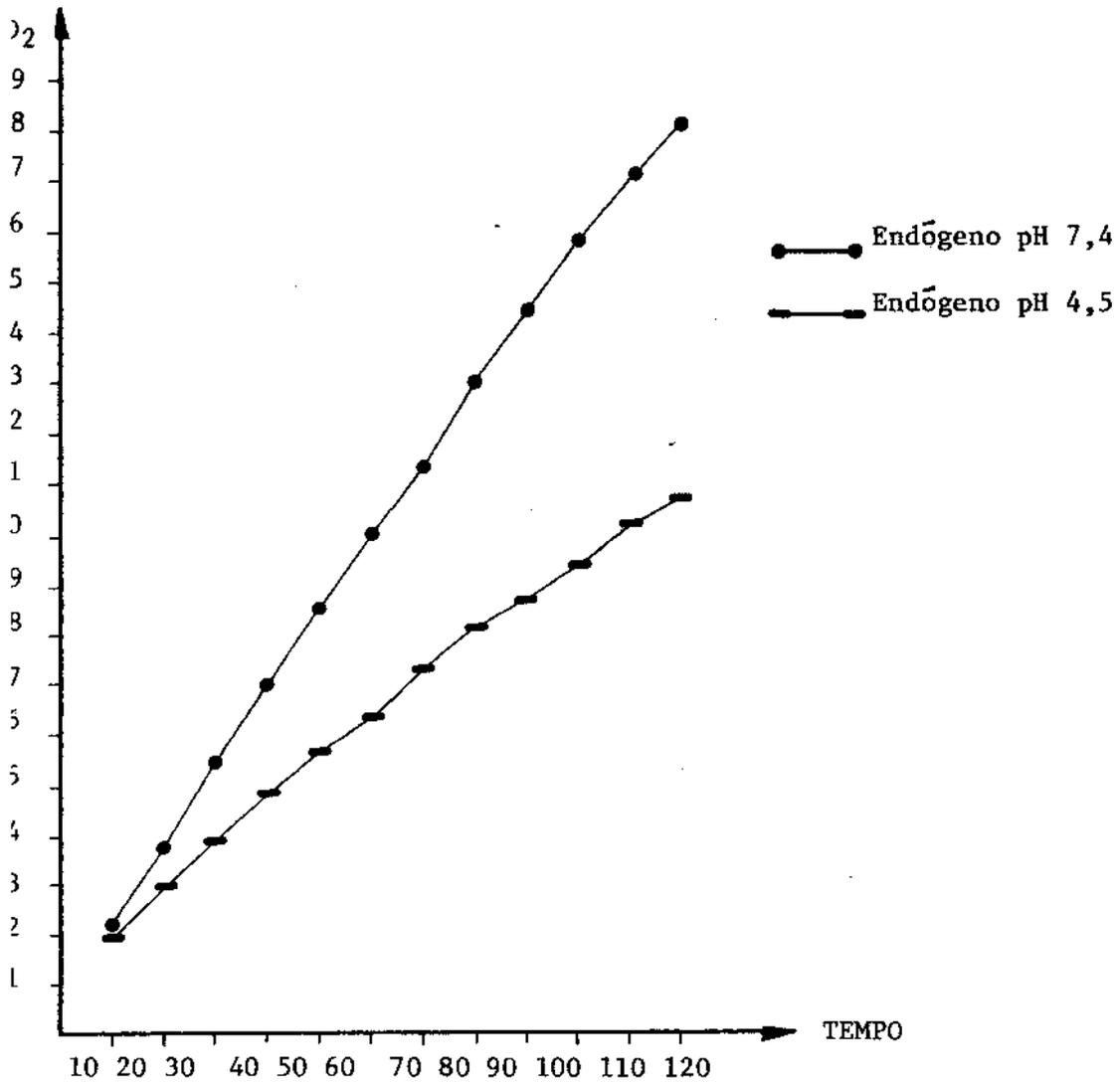


Figura 6 - Curvogramas relativos aos valores médios de QO₂ em função do tempo

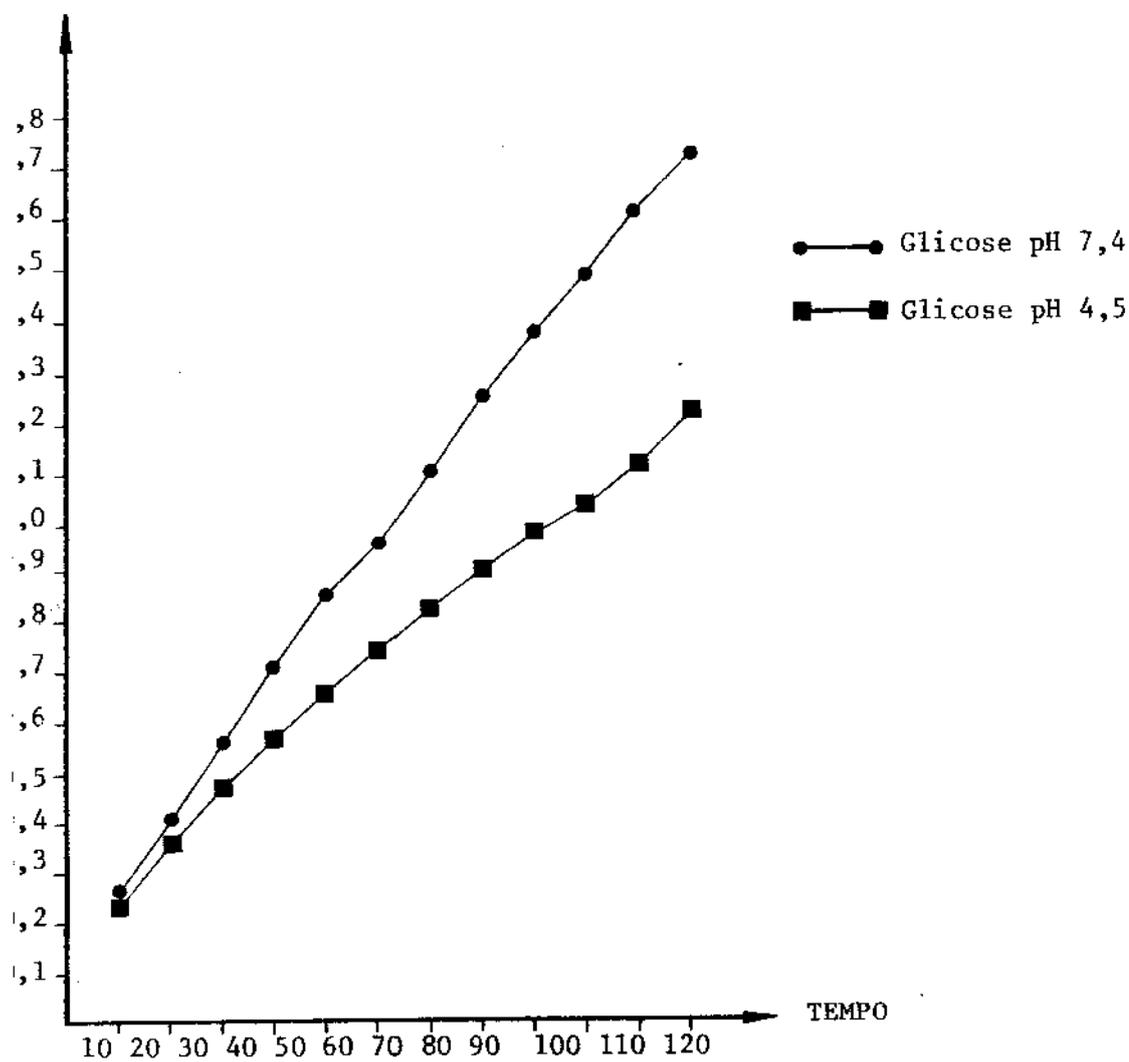


Figura 7 - Curvogramas relativos aos valores médios de QO₂ em função do tempo.

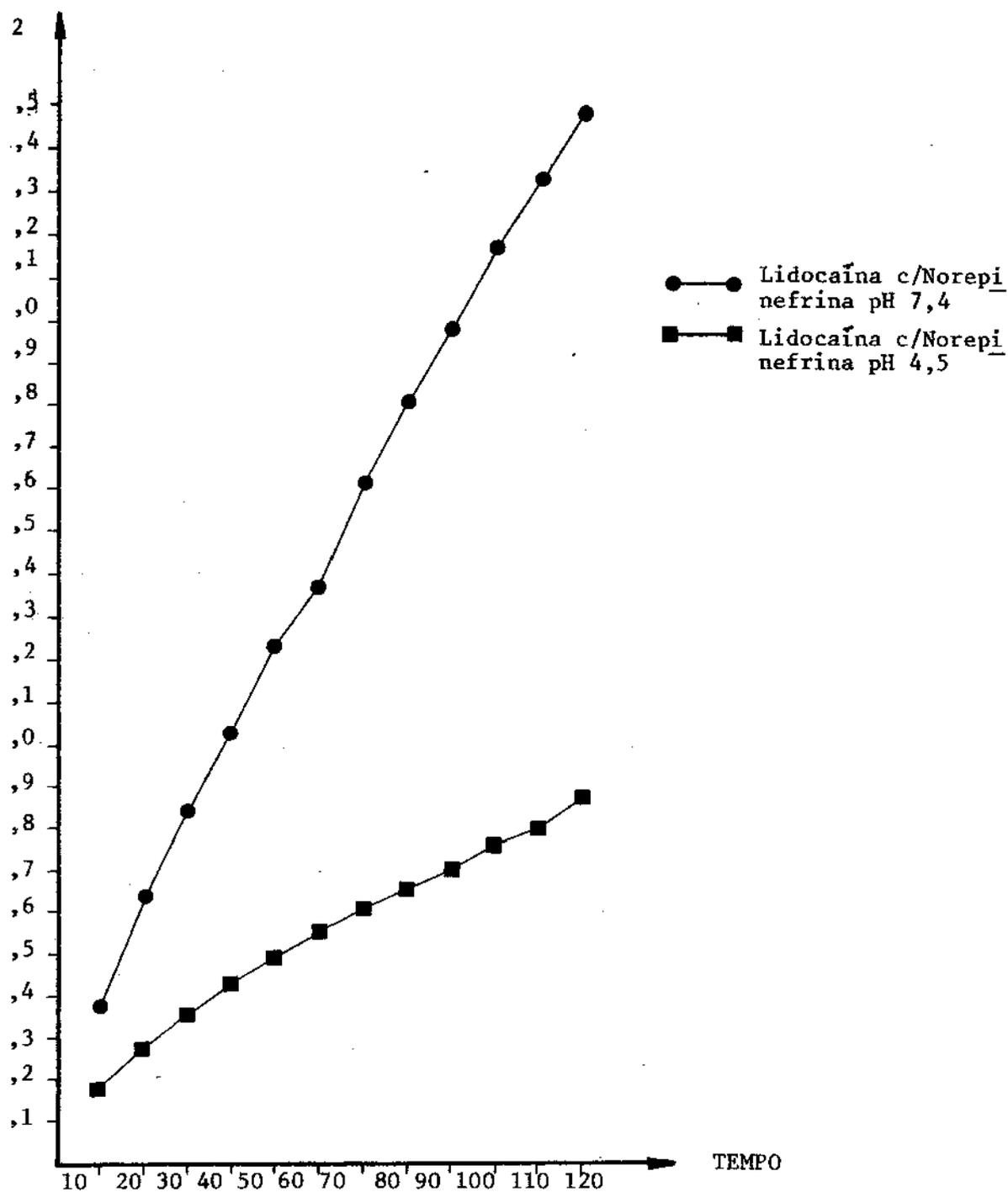


Figura 8 - Curvogramas relativos aos valores médios de QO_2 em função do tempo

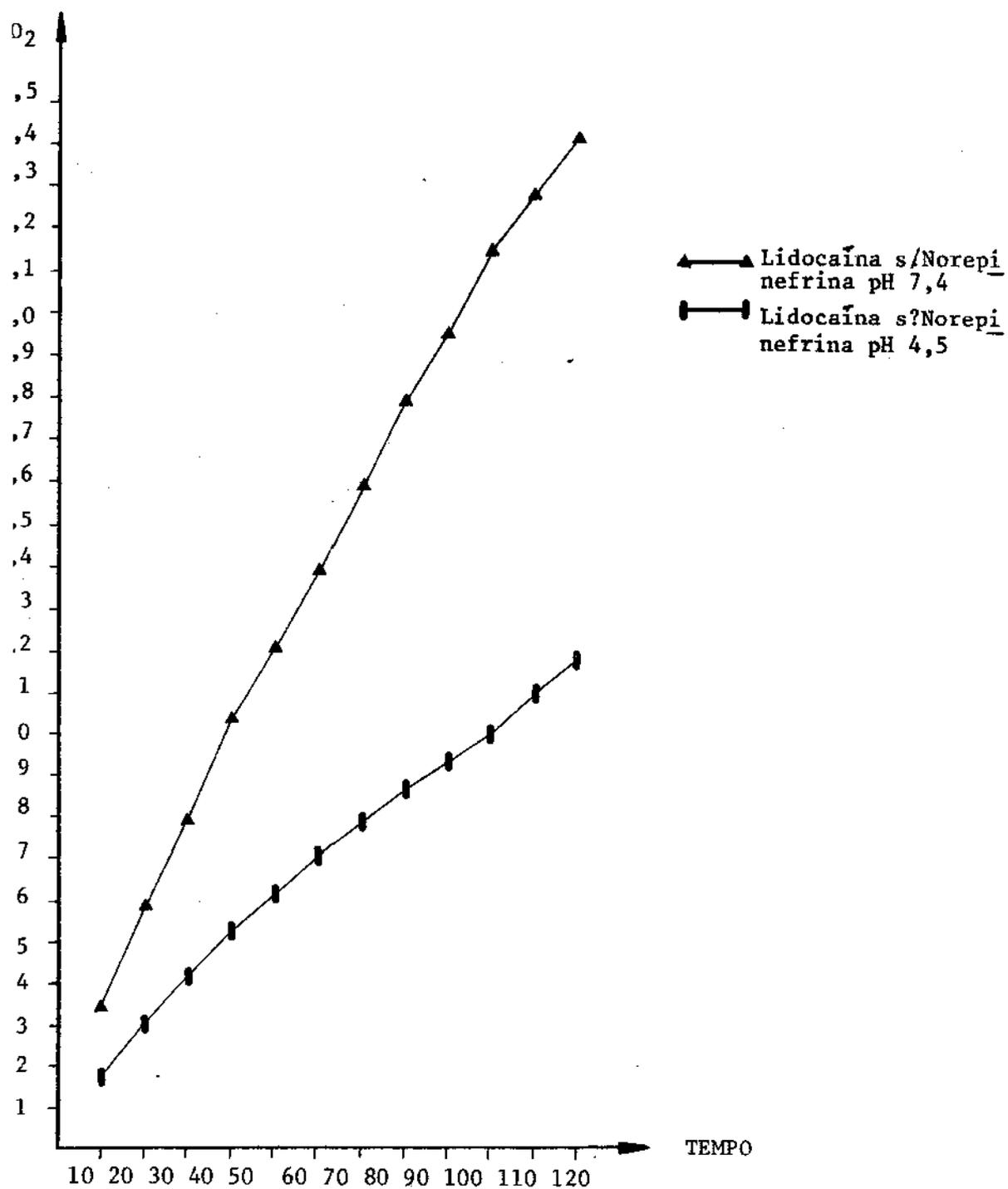


Figura 9 - Curvogramas relativos aos valores médios de QO₂ em função do tempo

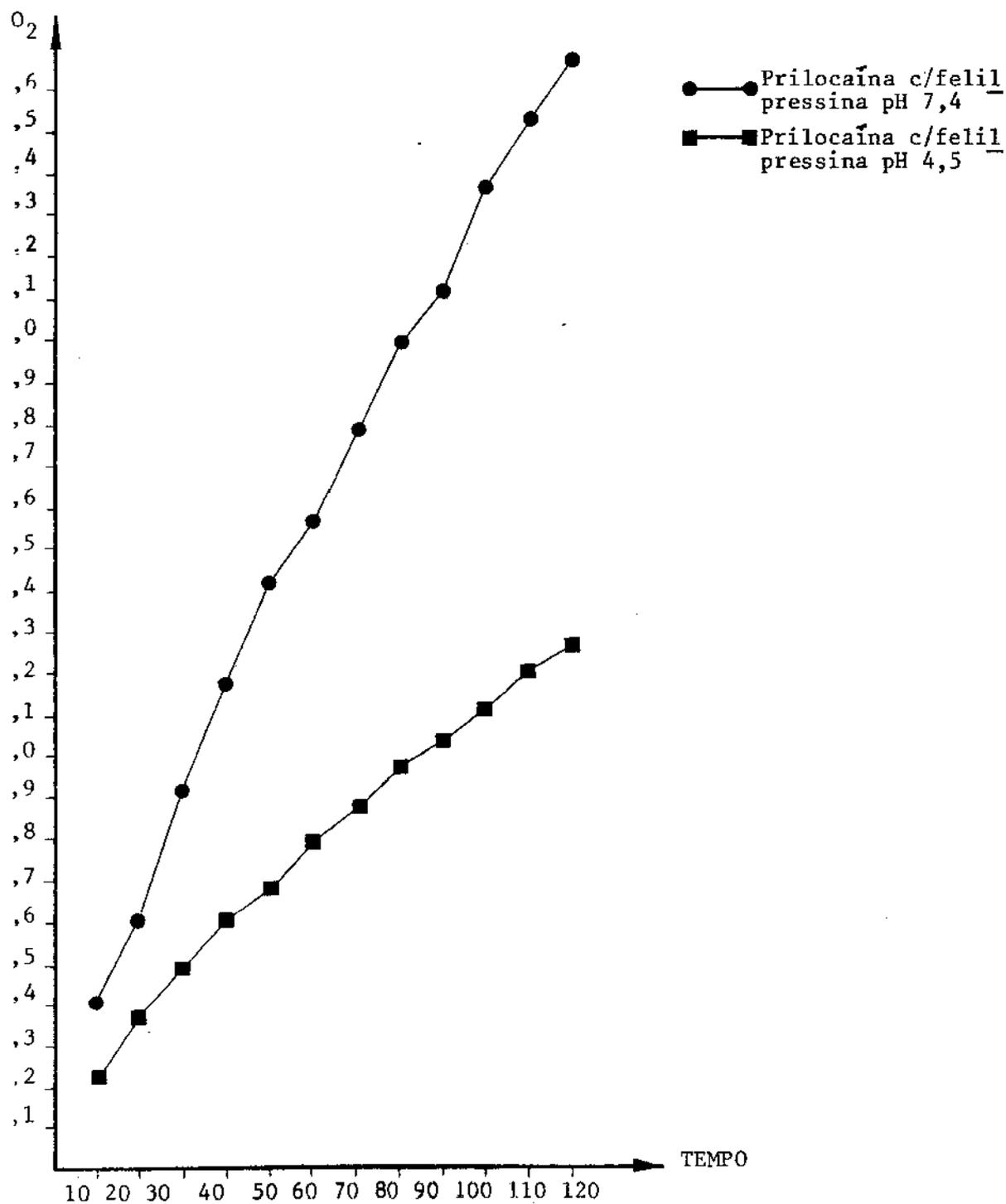


Figura 10 - Curvogramas relativos aos valores médios de QO₂ em função do tempo

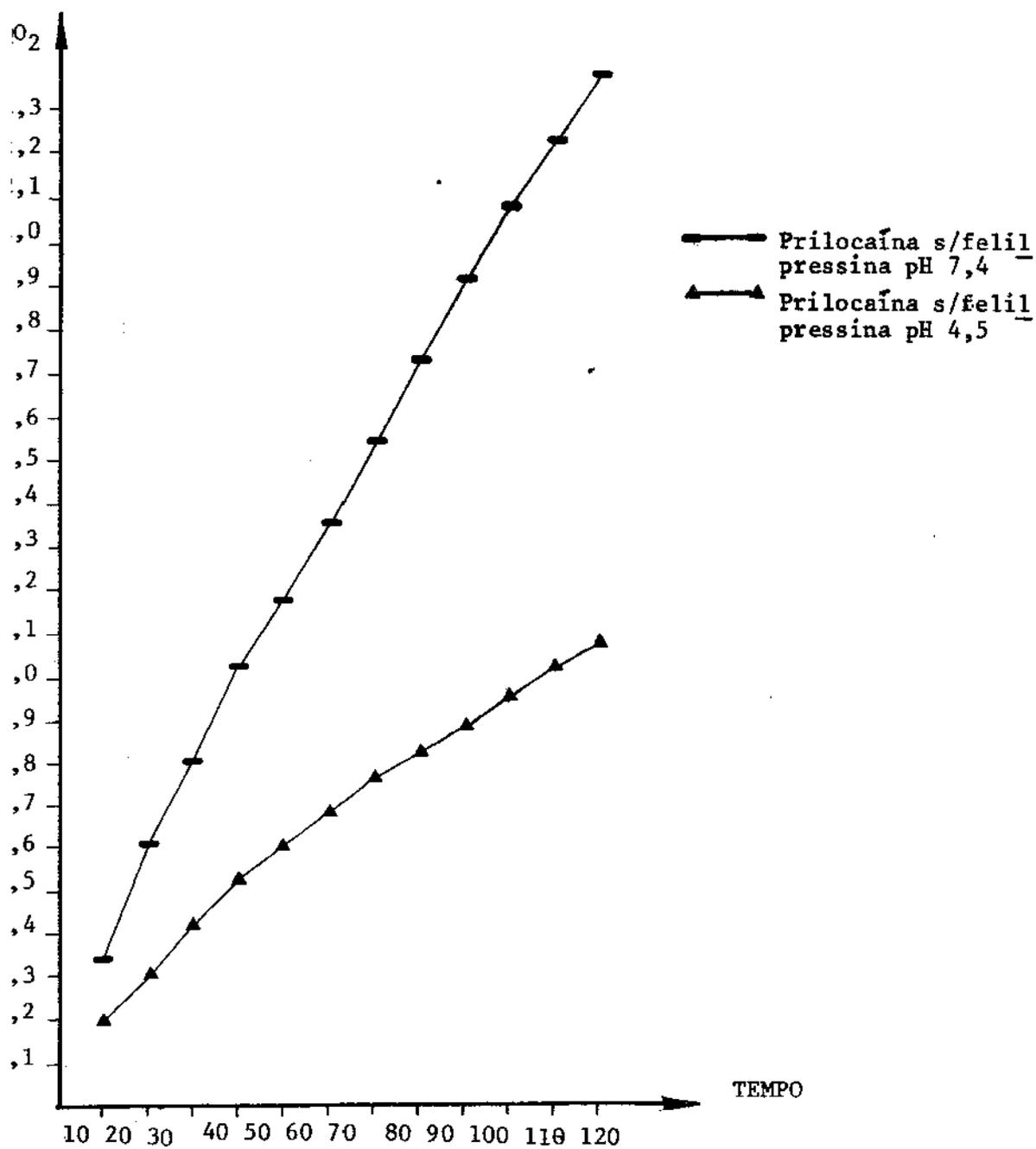


Figura 11 - Curvogramas relativos aos valores médios de QO_2 em função do tempo

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Pelo exposto na revista bibliográfica, verificamos a existência de um grande número de trabalhos relativos ao consumo de oxigênio pelos tecidos. Contudo, a preocupação dominante dos autores é voltada para o consumo endógeno, o qual tem sido comparado entre as diversas espécies de animais, assim como entre os diversos órgãos de um mesmo animal.

Mais recentemente, alguns estudiosos do assunto voltaram suas atenções para o estudo do consumo de oxigênio por tecidos tratados com drogas, mas usando substâncias marcadas com radiosótopos.

No presente estudo escolhemos a metodologia proposta por ser exequível em nosso meio e por entendermos que proporcionará uma visão clínica do problema.

Diversos autores observaram valores diferentes para o consumo de oxigênio de um mesmo tecido. Assim DIXON & MEYER (1936) publicaram um trabalho onde determinaram, com tecido cerebral homogeneizado, que porções distintas do cérebro mos-

traram diferentes consumos de oxigênio. O córtex cerebral mostrou maior atividade respiratória que outras porções do cérebro.

FLIEDER & FISHER (1955), FISHER (1967) fizeram estudo do consumo de oxigênio em polpa dental bovina. Entretanto o próprio FISHER (1967) mostra o inconveniente da escolha de polpa de dentes, pois esses tecidos apresentam variações do consumo de oxigênio conforme a região da polpa escolhida.

Para a nossa pesquisa, pelas razões apresentadas, o material (tecido) foi colhido sempre do mesmo local do fígado, ou seja no lobo anterior direito. A escolha de tecido hepático de cobaias baseou-se nos seguintes critérios:

- a) fácil aquisição.
- b) obtenção fácil do tecido, não necessitando técnica especial.
- c) condições controladas de saúde e nutrição dos animais.

Ao elaborarmos a estatística, fomos dada a oportunidade de fazermos algumas comparações entre as médias dos diferentes tratamentos que avaliamos de interesse, embora algumas delas

não fossem objeto de nossas proposições.

Como foram organizados dois sistemas com níveis de pH diferentes, onde cada um deles foi constituído por seis tratamentos, resultaram onze observações que estão apresentadas no esquema n° um página 37.

A partir do esquema n° 1, página 37, elaboramos o esquema n° 2, página 58, no qual fundamentamos nossas discussões, comparando-as, sempre que possível, com a bibliografia. Para facilitar a exposição, enumeraremos no esquema n° 2 os resultados de 1 a 11.

Por este esquema podemos observar que as médias obtidas para todos os tratamentos comparados com o endógeno, (tratamento I) linha horizontal n° 1, foram maiores.

Ao analisarmos o resultado n° 2 (linha horizontal n° 2) observamos que todos os tratamentos mostraram maior consumo de oxigênio, quando comparados ao tratamento II.

O terceiro resultado (linha horizontal n° 3) compreende a comparação das médias dos quatro tratamentos feitos com a lidocaína, e as mé

dias dos quatro tratamentos feitos com a prilocaína. Por este esquema, verificamos que a média da prilocaína apresentou um efeito significativo ao nível de 5% em relação à lidocaína, indicando que a prilocaína inibe menos a respiração do tecido hepático de cobaias, do que a lidocaína. Este resultado é compatível com KOZAM & BURNETT (1960), que verificaram que a lidocaína produz maior atividade inibitória na respiração dos tecidos pulpaes de incisivos de ratos do que a procaína.

Os autores comentam que o metabolismo celular, na fase oxidativa, depende dos enzimas catalíticos, e quando essas ações podem ser inibidas por substâncias tóxicas, podem-se obter informações sobre a função do metabolismo celular e a ação específica dessas substâncias. Conseqüentemente, se os anestésicos inibem o metabolismo oxidativo dos tecidos, seu estudo fornece indicações sobre a forma pela qual essas substâncias estão sendo tóxicas. Ainda FISHER & SCHWABE (1962) estudaram a polpa dental de bovinos tratada com procaína e verificaram uma depressão na atividade respiratória dos tecidos, concluindo que o grau de depressão na

atividade respiratória se verifica com o aumento da concentração da procaína.

.. Comparando a média da lidocaína com norepinefrina e lidocaína sem norepinefrina, não registramos diferenças significativas (linha nº 4). Este resultado é compatível aos trabalhos de FISHER et al (1957) que, estudando polpas de dentes de bovinos tratadas com adrenalina, registraram um efeito depressivo na respiração daqueles tecidos; resultados esses comparáveis aos achados para a lidocaína sem norepinefrina no período de uma hora.

Na linha nº 5, comparamos os valores médios da prilocaína a 3% com felilpressina e prilocaína a 4% sem felilpressina. Neste caso, a estatística mostrou que houve um melhor rendimento respiratório do tecido tratado com prilocaína com felilpressina (tratamento V). Este resultado é concordante com KOZAM & BURNETT (1960) que mostraram que o efeito depressivo da respiração pulpar de dentes de ratos só se verificava quando as concentrações anestésicas foram iguais ou superiores a 4%. COOK & MC DEVIT (1945), estudando leveduras e fígado de ratos tratados com anestésicos locais, registraram uma inibição na atividade respiratória,

que foi proporcional ao aumento da concentração dos anestésicos (procaína). FISHER & SCHWABE(1962) estudaram polpa dental de bovinos tratados com procaína e concluíram que o grau de depressão na atividade respiratória nos tecidos se verifica com o aumento da concentração do anestésico. Ainda com referência a concentrações, ROCKERT (1978) estudou o efeito dos anestésicos locais lidocaína e prilocaína, em concentrações que variaram de 2,5 % até 20%, e concluiu que só houve efeito depressivo na atividade respiratória quando a concentração era de 5% ou mais.

Ainda no esquema nº 2, as linhas de nº 8 a 11 nos mostram os resultados relativos às nossas proposições. Assim, pode-se verificar que todos os tratamentos com pH 7,4 apresentaram atividades respiratórias maiores (significantes ao nível de 1%) em relação aos tratamentos com pH 4,5.

As comparações foram feitas no sentido de verificar a atividade respiratória do tecido hepático nos seguintes tratamentos:

- 1) lidocaína com norepinefrina a um nível de pH 4,5 e pH 7,4

- 2) lidocaína sem norepinefrina a um nível de pH 4,5 e pH 7,4
- 3) prilocaína com felilpressina a um nível de pH 4,5 e pH 7,4
- 4) prilocaína sem felilpressina a um nível de pH 4,5 e pH 7,4

A análise mostrou que tecido hepático de cobaias tratados com o pH 7,4 nos quatro tratamentos acima, teve um aproveitamento significativo de oxigênio quando comparados ao pH 4,5. Estes resultados são compatíveis com COMWAL (1927) o qual verificou que a atividade respiratória de extratos de músculos decrescia com a diminuição do pH, e essa diminuição foi maior quando o pH estava por volta de pH 5,0. KISCH (1950) verificou a influência do pH na atividade respiratória de diferentes tecidos. Chegou a conclusão de que o melhor pH é aquele em torno de pH 7,4 a 7,5. CANZANELLI et al (1939) estudaram o consumo de oxigênio em fígado, cérebro, rim e testículos de cobaias, e observaram que o QO_2 do cérebro aumenta quando aumenta a alcalinidade até um pH 9,0, entretanto o fígado, rim, e testículos, pararam a respiração, quando o pH atingiu esta faixa. EUGÊNIA et al (1967) estudaram a

influência do pH na respiração de fatias de tecido cerebral de ratos, registrando que o pH 7,4, foi o que proporcionou melhor respiração.

ESQUEMA 2 - Resultados estatísticos das médias

Tratamentos Nºs.	I		II		III		IV		V		VI					
	E _{4,5}	E _{7,4}	G _{4,5}	G _{7,4}	LV _{4,5}	LV _{7,4}	L _{4,5}	L _{7,4}	PV _{4,5}	PV _{7,4}	P _{4,5}	P _{7,4}				
1	(+)	(+++)				
2			(+)	(+++)				
3					(+)	(++)				
4					(+)	(+)				
5										(+++)	(+)		
6	(+)	(+++)											
7			(+)	(+++)									
8					(+)	(+++)							
9								(+)	(+++)				
10										(+)	(+++)		
11												(+)	(+++)

E = endógeno
 G = glicose
 LV = lidocaína com norepinefrina
 L = lidocaína sem norepinefrina
 PV = prilocaína com felilpressina
 P = prilocaína sem felilpressina

+++ médias estatisticamente significantes
 ao nível de 1%.
 ++ médias estatisticamente significantes
 ao nível de 5%.
 + médias estatisticamente não significantes

CONCLUSÕES.

CONCLUSÕES

A atividade respiratória do tecido hepático de cobaio, quando tratado com lidocaína com norepinefrina, ou sem norepinefrina; prilocaína com felipressina é maior ao nível de pH 7,4 do que ao nível de pH 4,5.

A prilocaína a 4% deprimiu a atividade de respiratória de fígado de cobaias mais do que a prilocaína a 3%.

Finalmente, é razoável concluir que, ao utilizarmos anestésicos parciais com o pH elevado, teremos uma recuperação tecidual mais rápida, devido à maior oxigenação.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA* -

AYRES, G.C.M. Determinação do consumo de oxigênio QO_2 e $QO_2^{(N)}$ em masséter, cérebro e polpa dental de suíno - "Sus scrofa domesticus, Gray - Influência do meio de suspensão, do teor de oxigênio da atmosfera e de tetraciclina, sobre a respiração "in vitro". Piracicaba, 1965 Tese (Livre Docência) - F.O.P. .

BENOIT, P.W. Resersible skeletal muscle damage after administrarion of anesthetics with and epinephrine. J. oral Surg., 36: 198-201, Mar. 1978.

BERGQUIST, J.J. & FISHER, A.K. Endogenous oxygen consumption rates of bovine alveolar mucosa. J. dent. Res., 49(6): 1522-5, Nov./Dec. 1970.

CANZANELLI, A.; GREENBLATT, M.; ROGERS, G.A. & RAPPORT, D. The effect of pH changes on the "in vitro" oxygen consumption. Am.J.Physiol., 127: 290-5, 1939.

COMEL, M. Action of pH on Gaseous Exchange in Muscle Broth with the Continuous Presence of Phosphatization. Atti Accad. Linceri: 5(6):808-12, 1927. Apud Chem.Abstr., 21: 2300,

COOK, E.S. & MCDEVITT, M.L. Depression of Tissues and yeast respiration by local anesthetics. Stud. Instm Divi Thomae, 4: 107, 1945. Apud KOZAM, G. & BURNETT, G.W. op.cit.ref. 25.

DAWSON, R.M.C.; ELLIOTT, D.C.; ELLIOTT, W.H.; JONES K.M. Data for biochemical research. 2 ed. Oxford, Claredon press, 1959. p. 507.

DIXON, T.F. & MEYER, A. Respiration of the brain. Biochem. J., 30: 1577, 1936.

ELLIOT, K.A.C. & HENRY, M. Metabolism of brain suspensions III. Respiration of low oxygen tension. J. biol. chem., 163(1): 351-60, 1946.

EUGENIA, G.; ABABEI, L.; STEFAN, M. Influence of pH on respiration and glycolysis in rat brain slices. Fiziologia norm. patol., 12(5): 449-52, 1966. Apud Chem.Abstr., 66(25): 113-793s, 1967.

FISHER, A.K. Relation of body mass to respiration in rodent incisor pulp. J.dent.Res., 52(1):127-30, jan./feb., 1973.

_____ Respiratory variations within the normal dental pulp. J.dent.Res., 46(2): 424-8, Mar./Apr. 1967.

_____ & SCHWABE, C. Effects of procaine concentration and duration of contact on oxygen consumption in bovine dental pulp. J.dent.Res., 41(2): 484-90, Mar./Apr. 1962.

_____ & _____ Respiration and glycolysis in bovine dental pulp. J.dent.Res., 48(3): 439-43, May-June 1969.

_____ ; BELDING, J.H.; OPINSK, J.S.; SPINELLA, D. J. The influence of the stage of tooth development of the oxygen quotient of normal bovine dental pulp. J.dent.Res., 38(2): 203-15, Mar./Apr. 1959.

_____ ; SCHUMACHER, E.R.; ROBINSON, N.P.; SHARBONDY, G.P. Effects of dental drugs and material on the rates of oxygen consumption in bovine dental pulp. J.dent.Res., 36(3): 447-50, 1957.

_____ ; _____ ; _____ ; ALBER, D.D.; SHARBONDY
G.P. The relation of oxygen pressure to endoge-
nou oxygen consumption in bovine dental pulp. J.
dent.Res., 36(1): 150-2, Feb. 1957

FLIEDER, D.E. & FISHER, A.K. The rate of endoge-
nous oxygen consumption in bovine dental pulp.
J.dent.Res., 34: 921-6, 1955

GLICKMAN, I.; TURESKY, S.; HILL, R. Determination
of oxygen consumption in normal and inflamed hu-
man gingiva using the warburg manometric technic
J.dent.Res., 28(1) 83-94, Feb. 1949.

_____ ; _____ ; MANHOLD, J.H. The oxygen con-
sumption of healing gingiva. J.dent.Res., 29(4):
429-35, Aug. 1950.

GOODMAN, L.S. & GILMAN, A. The pharmacological
basis of therapeutics. 4 ed. New York,
Macmillan, 1973. p. 347-75.

_____ ; _____ ; _____. 5 ed. New York,
Macmillan- 1975. p. 375-90.

HAMBURGER, R.J. & SZENT-GYORGYI, A.V. The influ-
ence of oxygen tension upon the biological oxida-
tion process. Biochem.Z., 157:298-302 Apud
Chem.Abstr., 19:3 497, 1926.

KISCH, B. The pH optimum of the respiratory activity of different tissues. Biochem.Z., 253: 377-8 1933. Apud Chem.Abstr., 27: 128, 1935.

KOZAM, G. & BURNETT, G.W. Effect of local anesthetic on the respiration of dental pulp. Oral Surg., 13: 229-35, 1960.

_____ ; _____. The respiration of rat and rabbit incisor pulp. J.dent.Res., 37: 605-10, 1958.

LAINSON, P.A. & FISHER, A.K. Endogenous oxygen consumption rates of bovine attached gingiva. J. Period.Res. 3: 132-5, 1963.

MANHOLD, J.H. & VOLPE, A.R. Effect of inflammation in the absence of proliferation on the oxygen consumption of gingival tissue. J.dent.Res., 42 (1): 103-9, Jan./Feb. 1963.

MANHOLD, J.H. RUSTOGI, K.; VOLPE, A.R.; MANHOLD, B. Oxygen consumption (QO_2) of normal rat oral tissue with observations on healing. J.Periodont., 40: 9, Apr. 1969.

- MANHOLD Jr., J.H.; BOLDEN, T.E.; KATZ, S. Micro-respirometer technic for study of human gengival tissue. J.Dent.Res. 39(4): 746-7, July/Aug 1960.
- MATSUMOTO, Y. Tissue respiration of cerebrum of rabbit "in vitro", Influence of physiological ions and glucose. Kumamoto med.J., 5(1): 44-53 1952. Apud Chem.Abstr., 48:4078d, 1952.
- MATSUMOTO, Y.; NISHIMURA, S. SAITO, N.; KURAUCHI, Y. Influence of oxygen tension and phosphate on tissue respiration. Acta med. Univ.Kagoshima, 10(2): 197-202, 1968. Apud Chem.Abstr., 70(17): 75684c, 1969.
- NEDER, A.C. & GAMA, M.L.G. A influência do pH das soluções de Lidocaina na anestesia local de regiões com inflamação. Quintessência, 10(3): 61-6, 1976.
- NORMAN, J.N.; DOUGLAS, T.A.; SMITH, G.; HENDERSON, C. "In vitro" measurements of oxygen consumption of human heart muscle. Nature, Lond., 197: 802-3, 1963.

- PAUL, J. Cell and tissue culture. 2. ed.
Edinburgh, 1961. 312 p.
- QUASTEL, J.H. & WHEATLEY, A.H.M. Oxidation by the
brain. Biochem. J., 26: 725-44, 1932.
- RABBENO, A. Respiratory exchange of tissues.
Archs Sci biol. 7: 30-79, 1925. Apud Chem.
Abstr., 20: 1815, 1926
- ROCKERT, H.O. Effects of local anesthetics on the
respiratory activity "in vitro" of cells in the
dental pulp. Scand.J.dent.Res., 36:415-7, 1978
- SAHADE, W. Atividade respiratória de tecido nervo-
so em suspensão em soro sanguíneo de "sus scrofa
domesticus, Gray": - Investigação sobre fator
controlador Piracicaba, 1970. Tese(Doutora-
mento) . F.O.P. .
- SHALLA, C. & FISHER, A.K. Influence of hydrogen
ion concentration on oxygen consumption in bovi-
ne dental pulp. J.dent.Res. 49(5): 1154-8,
Sept./oct. 1970
- SKOLNIK, J.; TAKACS, L.; SZEND, E. In vitro
oxygen consumption of slices from kidney, brain
cortex, and liver in hipoxia(rat) Nature, Lond.
209 (5020): 305. 1966.

VOLPE, A.R. & MANHOLD Jr., J.H. Microrespirometer technique for study of human gingival tissue. J.dent.Res. 41(1): 420-6, Mar./Apr. 1962.

VRBA, R. & FOLBERG, J. Endogenous metabolism in brain cortex slices. Nature,Lond., 182 (4630): 237-8, 1958.

WARREN, R.E.; VAN DE MARK, T.B.; WEINBERG, S. Methemoglobinemia induced by high doses of prilocaine. Oral Surg., 37(6): 866-70, 1974.

De acordo:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, Rio de Janeiro. Referências bibliográficas, NB-66. Rio de Janeiro de 1978. 29 p.

Abreviatura de periódicos de acordo com:

WORLD LIST OF SCIENTIFIC PERIODICALS. 4 ed. London, Butterworths, 1963. 3v.