

Guilherme Henrique de Souza Poli

***Estudo comparativo da reparação óssea em ratos
Influência da pré-medicação com
benzodiazepínico***

Araçatuba – SP

2013

Guilherme Henrique de Souza Poli

***Estudo comparativo da reparação óssea em ratos
Influência da pré-medicação com
benzodiazepínico***

Trabalho de Conclusão de Curso como parte dos requisitos para obtenção do Título de Bacharel em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

Orientadora: Prof^a. Adj. Maria Cristina Rosifini Alves-Rezende

Araçatuba – SP

2013

Dedicatória

Dedicalória

Dedico este trabalho à minha mãe Rita de Souza pela extrema dedicação em criar um filho, que junto ao meu pai Roberto Joaquim Poli *in memoriam*, sempre me incentivou e apoiou nas minhas decisões e que com muito esforço amor e carinho me fizeram chegar até aqui; por terem estado sempre presentes nos momentos importantes da minha vida, sejam eles bons ou ruins. Amo vocês, serei eternamente grato por tudo!

Agradecimentos

Agradecimentos

Agradeço especialmente à minha orientadora Profa. Dra. Maria Cristina Rosífini Alves Rezende pela extrema disponibilidade, atenção, dedicação e paciência. Pelo conhecimento adquirido ao longo do curso e por todo incentivo e apoio em todas as minhas conquistas durante minha vida acadêmica, mesmo nos momentos difíceis, onde sem ela não teria sido possível conseguir. Muito Obrigado!

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP pela oportunidade de realização deste trabalho e por todo conhecimento oferecido durante minha graduação.

À todo corpo docente e funcionários desta faculdade que foram responsáveis pela minha formação profissional nestes cinco anos.

Ao Sr. Núncio Theophilo Neto

Aos atuais e antigos amigos de república Brunno Augusto Sousa Valim Silveira, Matheus Detogni Simi, Renier Zacaroni Barbosa Júnior, Felipe Melhado Magri, Tales Cândido Garcia da Silva e Eduardo Alves Jordão, que com a convivência diária, além de amigos-irmãos, se tornaram minha família nestes cinco anos longe de casa.

À Bruna Cabrera Capalbo pelo apoio e incentivo durante boa parte da graduação e também por toda ajuda em certos momentos difíceis ao longo desses 5 anos.

Ao Projeto Budô de Artes Marciais e todos seus judocas pelo ensino da filosofia do Judô que visa sempre a honra, dedicação, responsabilidade e ajudar o próximo para ambos progredirem, contribuindo assim drasticamente para a formação de caráter.

Determinação, coragem e auto confiança são fatores decisivos para o sucesso.

Se estamos possuídos por uma inabalável determinação conseguiremos superar os obstáculos.

Independentemente das circunstâncias devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho.

Dalai Lama

Resumo

Poli GHS, Alves-Rezende MCR. Estudo comparativo da reparação óssea em ratos Influência da pré-medicação com benzodiazepínico 36p. (Trabalho de Conclusão de Curso – Graduação). Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba.

RESUMO

Um dos mais comuns métodos farmacológicos de sedação consciente em Odontologia é o que utiliza os benzodiazepínicos por via oral em razão de apresentar ampla margem de segurança clínica, rápido início de ação, pequena incidência de reações adversas, facilidade de administração e baixo custo. O propósito deste trabalho foi estudar comparativamente a reparação óssea em ratos sob influência da pré-medicação com benzodiazepínico. Defeitos críticos (2.5mm) foram criadas em ambas as tíbias de 40 ratos machos, divididos em 2 grupos: Controle e Tratado. Neste último foi administrado benzodiazepínico do grupo Diazepam, diariamente, na concentração de 5mg/Kg/peso corporal nos 15 dias pré-operatórios. Em grupos de cinco, os animais foram sacrificados aos 7, 14, 30 e 60 dias pós-operatórios. Aos 7 dias pós-operatórios, enquanto o grupo controle exibia tecido conjuntivo rico em fibroblastos com pequenas áreas invadidas por trabéculas ósseas neoformadas, o grupo tratado mostrava tecido conjuntivo neoformado, com escassos fibroblastos e vasos capilares ao lado de linfócitos e macrófagos. Aos 14 dias pós-operatórios, o Grupo Controle exibiu trabeculado ósseo neoformado enquanto o Grupo Tratado evoluiu para trabéculas ósseas delgadas, com numerosos osteoblastos em suas bordas. Aos 30 dias pós-operatórios a reparação óssea está completa em ambos os grupos, porém no grupo controle a mineralização se mostra mais avançada. Aos 60 dias pós-operatórios as características observadas nos grupos controle e tratado são semelhantes entre si e ao período anterior, porém com osteogênese mais avançada.

Palavras Chave: Ratos; Cicatrização de Feridas; Tranquilizantes.

Abstract

Poli GHS, Alves-Rezende MCR. Comparative study of bone repair in rats Influence of premedication with benzodiazepine. (Academic Paper). Araçatuba: Faculty of Dentistry – São Paulo State University; 2013. 36p

ABSTRACT

One of the most common pharmacological methods of conscious sedation in dentistry is using benzodiazepines orally due to present wide margin of clinical safety, rapid onset of action, low incidence of adverse effects, ease of administration and low cost. The purpose of this study was compared to bone repair in rats under the influence of premedication with benzodiazepine. Critical defects (2.5mm) were created in both tibiae of 40 male rats were divided into 2 groups: control and treated. In this latter group was administered benzodiazepine diazepam daily at a concentration of 5mg/Kg/peso body within 15 days pre-surgery. In groups of five animals were sacrificed at 7, 14, 30 and 60 days postoperatively. At 7 days postoperatively, whereas the control group showed tissue rich in fibroblasts with small areas invaded by newly formed trabecular bone, the treated group showed newly formed tissue with few fibroblasts and capillaries adjacent to lymphocytes and macrophages. At 14 days post-surgery, the control group showed newly formed trabecular bone while the treated group evolved into thin trabecular bone with numerous osteoblasts on its edges. At 30 days post-operative bone healing is complete in both groups, but the control group mineralization appears more advanced. At 60 days post-operative characteristics observed in treated and control groups are similar and different to the previous period, but with more advanced osteogenesis

Keywords: Rats; Tranquilizing Agents; Wound Healing.

Lista de Figuras

Lista de Figuras

Figura 1. Grupo Controle – 7 dias	29
Figura 2. Grupo Tratado – 7 dias	29
Figura 3. Grupo Controle – 14 dias	29
Figura 4. Grupo Tratado – 14 dias	29
Figura 5. Grupo Controle – 30 dias	29
Figura 6. Grupo Tratado – 30 dias	30
Figura 7. Grupo Controle – 60 dias	30
Figura 8. Grupo Tratado – 60 dias	30

Sumário

Sumário

Introdução	19
Proposição	21
Material e Método	23
Resultados	27
Discussão	31
Conclusão	34
Referências	36

Introdução

Introdução

São considerados fatores de fuga ao tratamento na Odontologia a ansiedade e o medo. Estes podem ter sua origem em experiências negativas vividas pelo próprio paciente ou por seus familiares e/ou amigos¹.

Nesses pacientes, a sedação/analgesia obtida por meio farmacológico muitas vezes parece constituir método efetivo de controle da ansiedade. Vale também destacar que procedimentos mais invasivos ou de longa duração podem também requerer o uso da sedação/analgesia, mesmo em pacientes colaboradores^{2,3}.

Assim, a sedação promove em linhas gerais dois tipos de benefícios⁴:

- permite tolerar um procedimento desagradável ao aliviar a ansiedade, o desconforto ou a dor;

- em crianças e adultos não-cooperativos, a sedação/analgesia permite agilizar a condução de procedimentos que não são particularmente desconfortáveis, mas que podem exigir a imobilidade do paciente.

Dos métodos farmacológicos de sedação consciente em Odontologia, um dos mais comuns é o que utiliza os benzodiazepínicos. Estes induzem relaxamento do paciente, facilitando o procedimento. Podem causar depressão respiratória significativa, principalmente se utilizado em conjunto com opióides. Os benzodiazepínicos não têm nenhuma ação analgésica, anti-depressiva ou anti-psicótica. Provocam depressão do tônus e aumento da resistência das vias aéreas⁴.

O propósito deste trabalho foi estudar comparativamente a reparação óssea em ratos sob influência de pré-medicação com benzodiazepínico.

Proposição

Proposição

O propósito deste trabalho foi estudar comparativamente a reparação óssea em ratos sob influência de pré-medicação com benzodiazepínico.

Material e Método

Material e Método

1. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este estudo foi submetido à aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animal (CEUA) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), seguindo os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Somou-se à preocupação de bem estar dos animais de acordo com a Lei no. 5.517 de 23 de outubro de 1968, artigo 5o; Lei no. 6.638 de 08 de maio de 1979; à resolução no. 592 de 26 de junho de 1992 e Projeto de Lei no. 9.605/1998 e no. 1.691/2003.

A Comissão de Ética no Uso de Animal (CEUA) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) segue as propostas legais do COBEA, Sociedade Civil de caráter científico-cultural, sem fins lucrativos, de duração indeterminada, com sede e foro na cidade de São Paulo, constituída por pesquisadores e técnicos interessados em experimentação animal.

2. PARADIGMA E MODELO DE PESQUISA

A investigação foi desenvolvida dentro do paradigma tradicional qualitativo, por meio de abordagem experimental, após sua metodologia ser avaliada e aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animal (CEUA) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP).

3. PROBLEMA

O reparo ósseo sofre influência de pré-medicação com benzodiazepínico?

4. HIPÓTESES

- O reparo ósseo sofre influência de pré-medicação com benzodiazepínico.
- O reparo ósseo não sofre influência de pré-medicação com benzodiazepínico.

5. PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

O experimento utilizou 20 (n=10) ratos machos com peso entre duzentos e cinquenta e trezentos gramas, da espécie *Rattus norvegicus*, ordem *Rodentia*, linhagem *Wistar*, distribuídos aleatoriamente em dois grupos, com 10 animais cada:

- Grupo I (Controle): ratos controle submetidos à realização de defeitos ósseos experimentais em ambas as tíbias;

- Grupo II (Tratado): ratos tratados com benzodiazepínicos submetidos à realização de defeitos ósseos experimentais em ambas as tíbias. receberam benzodiazepínico do grupo Diazepam (Valium, Roche, Rio de Janeiro, Brasil), na dosagem de 5 mg/Kg de peso corporal, nos quinze dias pré-operatórios que antecederam o ato cirúrgico. A droga foi administrada por via intraperitoneal sempre às 08:00 horas da manhã.

Durante todo o experimento, os animais permaneceram alojados em gaiolas plásticas padronizadas (39x32x16cm) com forração de maravalha (estéril) e mantidos em temperatura controlada de aproximadamente 21 graus centígrados, com ciclo de luz claro-escuro de 12 horas (luz de 6:00 às 18:00 horas), tendo água e ração à vontade. Todos os experimentos cirúrgicos foram realizados entre 07:30 e 09:30 horas, com objetivo de minimizar as influências circadianas. Os procedimentos de manipulação, alimentação e limpeza foram realizados seguindo rotina habitual laboratorial.

Para os procedimentos cirúrgicos os animais foram pesados e receberam anestesia geral com Cloridrato de Xilazina (Dopaser – Laboratório Calier do Brasil LTDA – Osasco, São Paulo, Brasil) e Cloridrato de Ketamina (Vetaset – Fort Dodge, Saúde Animal LTDA, Campinas, São Paulo, Brasil) na dose de 40-80 mg/kg Ketamina para 5-10 mg/kg de Xilazina, via intraperitoneal. Após a indução anestésica as tíbias direita e esquerda foram tricotomizadas em sua porção ventral, higienizadas com gaze e solução fisiológica a 0,9 % e a antissepsia da região foi realizada com Clorexidina 0,12 %. O animal foi posicionado em decúbito dorsal e o local de eleição para a

incisão foi estabelecido pela porção mais volumosa do tecido ósseo, por meio de palpação, sendo realizada com cabo de bisturi n° 3, montado com lâmina n° 15. Para o descolamento, utilizou-se, além da pinça de Adson com dente, os descoladores de Freer e de Molt. Esses mesmos instrumentos, juntamente com pinça anatômica auxiliaram no afastamento do retalho e estabilização das tíbias. A secagem do campo operatório foi realizada com gaze estéril. A criação do defeito experimental foi realizada com broca esférica carbide número 7004, montada em motor cirúrgico, sob refrigeração constante; o defeito criado foi aproximadamente do mesmo diâmetro da broca (2.5mm). Após a osteotomia fez-se a lavagem do defeito produzido com cloreto de sódio estéril e sutura convencional com fio mononylon 4-0. Em grupos de cinco, os animais foram sacrificados aos 7,14,30 e 60 dias pós-operatórios. Após o sacrifício, ambas as tíbias foram seccionadas com tesoura de ponta romba e, após a remoção dos excessos de tecidos duros e moles, foram fixadas em formalina a 10%. A seguir, foram descalcificadas em solução de citrato de sódio e ácido fórmico em partes iguais, e incluídas em parafina para possibilitar a microtomia. Os cortes semi-seriados com 6 micrometros de espessura foram corados com hematoxilina-eosina para estudo histológico.

Resultados

Resultados

7 dias pós-operatórios

O grupo controle exhibe a cavidade cirúrgica preenchida por tecido conjuntivo denso, rico em fibroblastos, permeado por delicadas trabéculas ósseas neoformadas (Figura 1). No grupo tratado é possível observar pequena área de coágulo sanguíneo desorganizado ao lado de tecido conjuntivo denso, permeado por moderado número de fibroblastos (Figura 2).

14 dias pós-operatórios

As lojas cirúrgicas encontram-se preenchidas por tecido ósseo neoformado no Grupo Controle e trabéculas ósseas delgadas, com numerosos osteoblastos em suas bordas no Grupo Tratado (Figuras 3 e 4).

30 dias pós-operatórios

A reparação óssea está completa e as cavidades cirúrgicas encontram-se totalmente preenchidas por tecido ósseo secundário nos grupos controle e tratado (Figuras 5 e 6).

60 dias pós-operatórios

As características observadas nos grupos controle e tratado são semelhantes ao período anterior, porém com osteogênese mais avançada (Figuras 7 e 8).

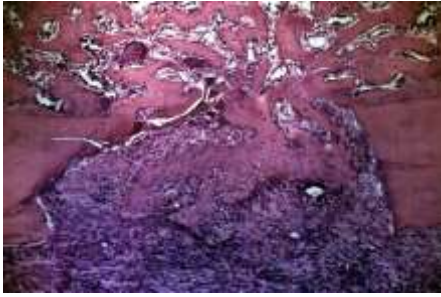


Figura 1 – Grupo Controle/7Dias -
 Tecido conjuntivo denso, rico em fibroblastos, permeado por delicadas trabéculas ósseas neoformadas. HE. 160X.

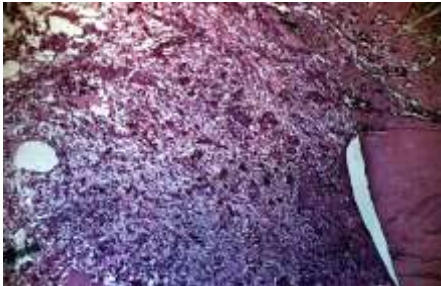


Figura 2 – Grupo Tratado/7Dias -
 Pequena área de coágulo sanguíneo desorganizado ao lado de tecido conjuntivo denso, permeado por moderado número de fibroblastos. HE. 160X

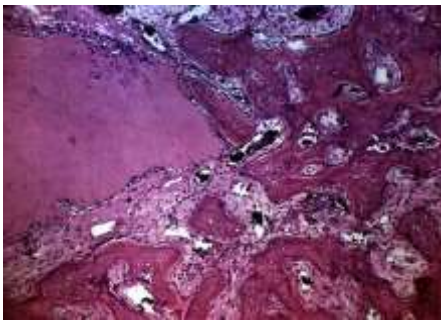


Figura 3 – Grupo Controle/14 Dias -
 Tecido ósseo neoformado. HE. 160X.

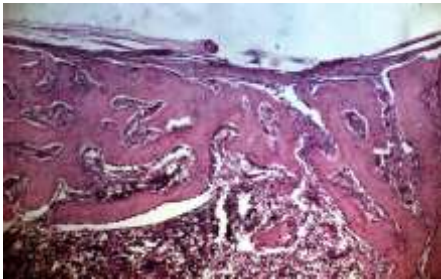


Figura 4 – Grupo Tratado/14 Dias –
 Trabéculas ósseas delgadas com numerosos osteoblastos na periferia. HE. 160X

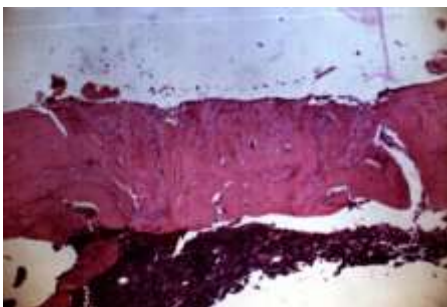


Figura 5 – Grupo Controle/30 Dias –
 Cavidade cirúrgica totalmente preenchida por tecido ósseo maduro (secundário). HE. 160X.



Figura 6 – Grupo Tratado/30 Dias – Cavityde cirúrgica preenchida por tecido ósseo maduro ainda apresentando áreas de menor mineralização (setas). HE. 160X.

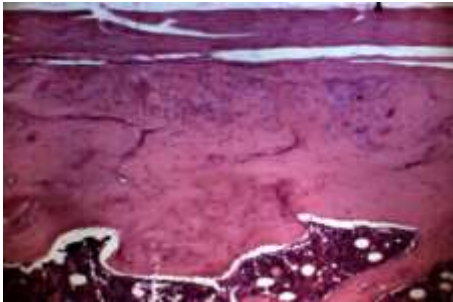


Figura 7 – Grupo Controle/60 Dias – Cavityde cirúrgica preenchida por tecido ósseo maduro. HE. 160X.

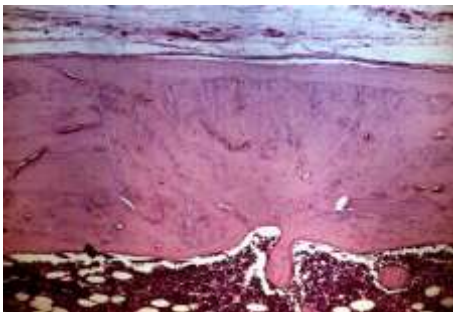


Figura 8 – Grupo Tratado/60 Dias – Cavityde cirúrgica preenchida por tecido ósseo maduro. HE. 160X.

Discussão

Discussão

A cicatrização de uma ferida é um mecanismo primário de sobrevivência, perfeitamente ajustada ao coágulo sanguíneo inicialmente formado. O reparo de cavidades ósseas pode ser morfológicamente dividido em três fases: exsudativa (caracterizada pela formação do coágulo sanguíneo), proliferativa (marcada pela proliferação fibroblástica e capilar) e reparadora (com síntese de colágeno e ossificação)⁵.

Bernik⁶ e Huf et al.⁷ acreditam que entre 1 e 3% de toda a população ocidental já os tenha consumido regularmente por mais de um ano benzodiazepínicos. Para Paprocki⁸ o consumo crescente de benzodiazepínicos parece ser resultado de um período particularmente turbulento que caracteriza as últimas décadas da humanidade. Segundo o autor, a diminuição progressiva da resistência da humanidade para tolerar tanto estresse, a introdução profusa de novas drogas e a pressão crescente por parte da indústria farmacêutica ou, ainda, hábitos de prescrição inadequada por parte dos médicos podem ter contribuído para o aumento da procura pelos benzodiazepínicos.

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que o grupo tratado, exibiu tecidos qualitativamente semelhantes ao Grupo Controle, exceto no período inicial de observação (7 dias). Neste período, enquanto o Grupo Controle apresentou início de mineralização óssea, o Grupo Tratado exibiu a cavidade óssea totalmente preenchida por tecido conjuntivo denso. Nos períodos pós-operatórios de 14 e 30 dias a mineralização óssea foi observada em ambos os grupos porém com características de maior ritmo no grupo Controle. Aos 60 dias pós-operatórios os achados em ambos os grupos são idênticos, culminando com a reparação óssea do defeito cirúrgico

É importante destacar que no grupo controle o reparo ósseo foi semelhante ao descrito por outros investigadores^{6,9-12}. Assim, a análise histológica mostrou aos 7 dias pós-operatórios evidente osteogênese. Aos 30 dias pós-operatórios a reparação

óssea estava completa e a loja cirúrgica preenchida por trabeculado ósseo espesso, com espaços medulares praticamente definidos, que se mostram diminutos aos 60 dias pós-operatórios.

A diferença nas taxas de mineralização entre ambos os grupos poderia ser explicada pela diferença nas taxas de gliconeogênese, síntese proteica e mobilização de ácidos graxos livres pela lipólise.

Conclusão

Conclusão

Com base nos resultados obtidos e na metodologia empregada para a realização deste trabalho podemos concluir que :

- A reabsorção do coágulo sanguíneo no Grupo Tratado foi semelhante ao Grupo Controle porém em velocidade menor;
- A formação do tecido conjuntivo no Grupo Tratado foi semelhante ao Grupo Controle porém em velocidade menor;
- A formação do tecido ósseo no Grupo Tratado foi semelhante ao Grupo Controle porém em velocidade menor;
- Aos 60 dias pós-operatórios ambos os grupos mostraram as cavidades ósseas totalmente preenchidas por tecido ósseo densamente mineralizado.

Referências

Referências

1. Aeschliman SD, Blue MS, Williams KB, Cobb CM, MacNeill SR. A preliminary study on oxygen saturation levels of patients during periodontal surgery with and without oral conscious sedation using diazepam. *J Periodontol* 2003; 74(7):1056-9.
2. Haas DA. Oral and inhalation conscious sedation. *Dent Clin North Am* 1999; 43(2):341-59.
3. Nathan JE. Managing behaviour of preoperative children. *Dent Clin North Am* 1995; 39 (4): 789–816.
4. SAERJ - Anestesia fora do Centro Cirúrgico disponível em <http://www.saerj.org.br/publicacoes/livro2007.asp>. Acesso em 07 de julho de 2013.
5. Alves Rezende MCR, Kusuda RK, Alves LMN, Okamoto T, Okamoto R, Alves-Rezende LGR, Alves-Claro APR. Efeito do estresse crônico de contenção sobre o reparo de cavidades ósseas: estudo histológico em tíbias de ratos. *Rev Odontol Araçatuba*. 2009; 30: 71-6.
6. Bernik MA. Benzodiazepínicos: quatro décadas de experiência. São Paulo: Edusp; 1999. 242p.
7. Huf G, Lopes CS, Rosenfeld S. O uso prolongado de benzodiazepínicos em mulheres de um centro de convivência para idosos. *Cad. Saúde Pública*. 2000; 16: 351-62.
8. Paprocki J. O emprego de ansiolíticos benzodiazepínicos pelo clínico geral e por especialistas não psiquiatras. *Rev ABP-APAL* 1990; 64:305-12.
9. Alves-Rezende MCR, Okamoto T. Effects of fibrin adhesive material(Tissucol) on alveolar healing in rats under stress. *Braz Dental J*. 1997; 8:13-9.
10. Alves-Rezende MCR, Okamoto T. Influência do estresse no processo de reparo em feridas de extração dental: estudo histológico em ratos. *Rev Odontol Unesp*.1989;18:119-30.

11. Berger FM. Effect of antianxiety drugs on fear and stress. Behav Sci. 1980; 25:315-21.
12. Nappo S, Carlini EA. Preliminary findings: consumption of benzodiazepines in Brazil during the year 1988 and 1989. Drug Alcohol Depend.1993;33:11-7.