

Avaliação do Uso de Microesferas de Bupivacaína em Excesso Enantiomérico de 50% após Bloqueio do Nervo Ciático de Ratos

Rohnelt Machado de Oliveira ¹, Pedro Paulo Tanaka ², Sergio Bernardo Tenorio ³

Resumo: Oliveira RM, Tanaka PP, Tenório SB – Avaliação do Uso de Microesferas de Bupivacaína em Excesso Enantiomérico de 50% após Bloqueio do Nervo Ciático de Ratos.

Justificativa e objetivos: Alcançar melhores benefícios terapêuticos dos anestésicos locais no controle da dor pós-operatória, através de carreadores de liberação controlada. Este estudo teve por objetivo a comparação das características dos bloqueios sensitivo e motor entre microesferas sem anestésico local; microesferas com bupivacaína racêmica encapsulada; microesferas com bupivacaína em excesso enantiomérico 50% e bupivacaína em excesso enantiomérico 50% sem as microesferas.

Método: Ratos (Wistar), alocados em quatro grupos: A (Microesfera); B (Microesfera de bupivacaína S50-R50); C (Microesfera de Bupivacaína em excesso enantiomérico de 50%); D (Bupivacaína em excesso enantiomérico de 50%). A anestesia inalatória, realizada previamente ao bloqueio do nervo ciático (halotano a 2% e O₂ a 100%). O bloqueio sensorial foi medido pelo tempo exigido para cada rato retirar a pata de uma placa quente a 56°C (positivo > 4 s). O bloqueio motor foi medido pelo tempo entre a injeção do medicamento até a recuperação do escore 2 de critério estabelecido.

Resultados: Nos grupos B, C e D a resposta sensitiva foi significativamente mais frequente do que no Grupo A ($p < 0,001$). Entre os Grupos B, C e D não se observam diferenças estatisticamente significativas de resposta positiva ao teste sensitivo ($p > 0,05$). Nos Grupos B, C e D, a resposta ao teste motor também foi significativamente mais frequente do que no grupo A ($p = 0,02$). Nos Grupos B e D, observou-se tendência de maior positividade ao teste motor que no Grupo C ($p = 0,10$).

Conclusões: A liberação controlada de microesfera de bupivacaína em excesso enantiomérico de 50% apresentou resultado semelhante em relação à analgesia quando comparado às outras formulações anestésicas e menor bloqueio motor.

Unitermos: ANESTÉSICOS, Local, bupivacaína; ANIMAL, Rato; DOR, Pós-Operatória.

©2011 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

INTRODUÇÃO

Os bloqueios de condução nervosa são um bom meio para prover analgesia pós-operatória. No entanto, sua utilidade é limitada pela curta duração do efeito dos anestésicos locais. O anestésico local ideal deveria ter longa duração de ação e baixa toxicidade, propriedades que não estão presentes nos atuais produtos disponíveis para uso clínico ¹. Novos anestésicos locais capazes de prover bloqueios nervosos prolonga-

dos foram desenvolvidos, porém devido ao fato de apresentarem elevada toxicidade sistêmica, não foram aceitos ^{2,3}.

Com o auxílio de cateteres é possível infundir anestésicos locais de modo contínuo e prolongar indefinidamente sua ação, porém há aumento nos riscos de complicações decorrentes da absorção sanguínea. A adição ao anestésico local de medicamentos que retardem a absorção, como a adrenalina, ou potencializem o efeito, como os opióides, não trazem benefícios evidentes e contribuem para o aumento dos riscos de toxicidade dos efeitos colaterais dos próprios agentes adicionados ⁴⁻⁶. A partir da década de 1990, foram desenvolvidos sistemas de depósito como os lipossomas, ciclodextrinas e microesferas que liberam medicamentos de modo lento e contínuo ⁷ e prolongam a duração dos efeitos.

Dentre estes sistemas, as microesferas podem ter um perfil adequado para o uso com os anestésicos locais. Tratam-se de polímeros biodegradáveis e mecanicamente estáveis com diâmetros suficientemente pequenos para permitir que os medicamentos encapsulados sejam transportados até o tecido nervoso por agulhas comuns ⁸⁻¹². As microesferas, por sua vez, liberam a droga já no interior do organismo, em pequenas e controláveis doses diárias, de acordo com a forma que foi projetada, durante dias.

Recebido da Pós-Graduação em Cirurgia (Anestesiologia) da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Brasil.

1. Anestesiologia; Doutor em Cirurgia pela Universidade Federal do Paraná (UFPR);

Anestesiologista do Hospital Nossa Senhora das Graças

2. MD, PhD; Clinical Associate Professor Stanford University School of Medicine

3. Professor Adjunto de Anestesiologia da UFPR; Responsável pelo CET do Hospital de Clínicas da UFPR

Submetido em 24 de janeiro de 2010.

Aprovado para publicação em 25 de julho de 2011.

Correspondência para:

Dr. Rohnelt Machado de Oliveira

Rua Campos Sales 220/1303

80030230 – Curitiba, PR, Brasil

E-mail: rohnelt_oliveira@uol.com.br

Os sistemas de liberação controlada de drogas oferecem inúmeras vantagens quando comparados aos sistemas convencionais de administração de fármacos, tais como: a) maior eficácia terapêutica, com liberação progressiva e controlada do fármaco, a partir da degradação da matriz; b) diminuição significativa da toxicidade e maior tempo de permanência na circulação; c) natureza e composição dos veículos variada e, ao contrário do que se poderia esperar, não há predomínio de mecanismos de instabilidade e decomposição do fármaco (bio-inativação prematura); d) administração segura (sem reações inflamatórias locais) e conveniente (menor número de doses); e) direcionamento a alvos específicos, sem imobilização significativa das espécies bioativas; f) tanto substâncias hidrofílicas quanto lipofílicas podem ser incorporadas.

A grande maioria dos anestésicos locais amino-amidas empregados clinicamente são compostos quirais. Apresentam um carbono assimétrico adjacente ao grupo amina e assim existem sob a forma de isômeros, que são a imagem especular um do outro. Distinguem-se os isômeros (D) dextrorrotatórios e os isômeros (L) levorrotatórios. A bupivacaína em excesso enantiomérico de 50% é composta de uma mistura com excesso enantiomérico na relação de 75% de componente levógiro e 25% de componente dextrógiro. A estereosseletividade é fator importante para diminuir a cardiotoxicidade da bupivacaína.

Este estudo teve por objetivo a comparação das características dos bloqueios sensitivo e motor entre microesferas sem anestésico local; microesferas com bupivacaína racêmica encapsulada; microesferas com bupivacaína em excesso enantiomérico 50% e bupivacaína em excesso enantiomérico 50% sem as microesferas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Em acordo com as normas do COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) foram estudados ratos machos da raça Wistar com peso entre 200 g e 350 g após aclimatação por oito dias em ambiente aquecido a 21°C e com umidade do ar em torno de 55%, tendo-se reproduzido o ciclo dia-noite para evitar modificação no ritmo circadiano dos animais. Formou-se de modo aleatório quatro grupos com oito ratos alocados de acordo com o tipo de solução utilizada no nervo ciático:

- Grupo A: apenas as microesferas sem anestésico local;
- Grupo B: microesferas com bupivacaína racêmica encapsulada;
- Grupo C: microesferas com bupivacaína em excesso enantiomérico 50%;
- Grupo D: apenas a bupivacaína em excesso enantiomérico 50% sem as microesferas.

Sob anestesia geral com halotano em oxigênio por máscara e ventilação espontânea, os ratos foram colocados em decúbito lateral e realizado o bloqueio do nervo ciático, tendo como referência o sulco localizado pela palpação entre

a cabeça do grande trocânter do fêmur e a tuberosidade isquiática. O nervo foi identificado pela introdução no sulco de uma agulha 24 de teflon (Stimuplex, B. Braun, Melsungen, Germany) unida a um estimulador de nervo (DigiStim II, NeuroTechnology, Houston, Tex).

A proximidade da ponta da agulha no nervo ciático durante o bloqueio foi confirmada por uma contração muscular visível da pata com uma intensidade de estímulo de 0,2 mA. O volume da injeção foi de 0,5 mL em seringa de insulina, de uma solução de 3,175% de cloridrato do anestésico local nos grupos B e C. Nos grupos A e D foram injetados o mesmo volume de 0,5 mL contendo somente microesferas ou anestésico local. A seringa de insulina foi acoplada a agulha de punção com o espaço morto previamente preenchido pela solução a ser estudada. As microesferas liofilizadas foram diluídas em água destilada e misturadas na velocidade máxima por 2 minutos antes da injeção. Houve a manipulação prévia das drogas por outro investigador. Após o bloqueio, os animais foram colocados nas gaiolas. As microesferas contendo a bupivacaína em excesso enantiomérico foram preparadas com base em metodologia descrita anteriormente¹³.

Avaliação do bloqueio sensorial¹⁴: o bloqueio sensorial foi medido pelo tempo requerido para cada rato retirar sua pata de uma placa a 56°C de temperatura. A placa quente é equipada com um diodo que emite com precisão $\pm 0,1^\circ\text{C}$. Além da exatidão do diodo, foi utilizado um termômetro. Os ratos intactos, não anestesiados, retiram sua pata da placa dentro de um a três segundos. Eles foram envolvidos com um pano posicionado delicadamente acima do quadril, com a finalidade de conter as extremidades superiores e obstruir sua visão. Os ratos foram posicionados para estar com uma pata posterior sobre a placa quente e a outra contralateral colocada em um bloco de madeira na temperatura normal. As patas posteriores foram expostas em ordem (esquerda depois direita) à placa quente. Alternando os lados, a pata contralateral serve como controle no estudo para detectar efeitos analgésicos sistêmicos potenciais ou a analgesia de estresse induzida. A latência para retirar cada pata da placa quente foi gravada, alternando as patas, e permitindo ao menos 15 segundos de recuperação entre cada medida. A experimentação foi finalizada após 12 segundos para os casos em que não houve reação do animal à placa quente, a fim de não causar ferimentos ou a hiperalgesia, sendo o tempo registrado; além de serem considerados quatro segundos como teste positivo.

Resposta ao posicionamento¹⁴: Quando o rato está na posição normal de descanso, os dedos das patas estão flexionados sobre o dorso. Sua habilidade em reposicionar a pata traseira e os dedos foram avaliados. Os ratos foram colocados em posição de pronação com as patas traseiras esticadas para trás (com o dorso em contato com a superfície firme). A resposta foi avaliada de acordo com os seguintes critérios: a) a pata traseira retorna a sua posição original com as garras abertas (dorsiflexão ou abdução e extensão das garras); b) a pata traseira retorna a posição original, no entanto as garras estão fechadas (dorsiflexão e garras parcialmente flexionadas e aduzidas); c) a pata traseira não retorna totalmente a posição original (inabilidade em abrir e entender as garras);

d) a pata traseira permanece e as garras estão fechadas (denota bloqueio motor). Não foi mensurado o tempo de duração do bloqueio motor. A avaliação do bloqueio sensitivo e a presença de bloqueio motor foram repetidas, diariamente, em mesmo horário. Foram considerados como resultado positivo os animais que apresentaram critérios c e d.

No 2º, 4º, 6º, 8º dia do experimento, um animal de cada grupo era selecionado. Após anestesia geral com halotano, era realizada punção cardíaca e retiradas amostras de sangue para avaliação da concentração plasmática do anestésico local. Os animais foram mortos com injeção intraperitoneal de 70 mg.kg⁻¹ de tiopental sódico logo após coleta de sangue.

Análise estatística: trata-se de um estudo experimental, prospectivo e longitudinal da análise do bloqueio motor e sensitivo da bupivacaína em excesso enantiomérico de 50% (S75-R25) veiculadas em microesferas. Todos os dados foram obtidos prospectivamente pelo pesquisador na avaliação dos animais, registrados no instrumento de coleta de dados elaborado pelo autor. Os dados foram digitados em planilha eletrônica (Excel), conferidos e exportados para o programa Estatística.

O modelo Anova de Kruskal-Wallis foi aplicado para avaliar a diferença das medidas de natureza contínua de distribuição assimétrica (teste sensitivo) nos diferentes grupos. Para todos foram utilizados os testes bicaudais, considerando que as diferenças poderiam estar distribuídas para ambos os lados da curva, com nível de significância mínimo de 5%. O tamanho da amostra foi estimado considerando um erro de tipo I de 5% (alfa) e erro do tipo II de 10%, com um poder de teste estimado mínimo de 90%. Não se esperava uma diferença significativa em relação às características estudadas comparando-se as duas soluções de anestésicos locais veiculadas em microesferas.

RESULTADOS

A avaliação do bloqueio sensorial demonstrou que após a infiltração do AL no nervo ciático de ratos ocorreu um aumento do limiar de dor dos animais com todas as formulações anestésicas estudadas (Grupos B, C, D), sendo estatisticamente diferente do Grupo (A) controle ($p < 0,001$). Contudo comparações entre os Grupos B, C e D demonstraram perfis de bloqueio sensorial semelhantes ($p > 0,05$). A injeção de AL na forma de microesferas em concentrações diferentes não induziu aumento na duração da analgesia e na intensidade do efeito quando comparada ao AL livre (Tabela I).

Avaliação do bloqueio motor

Comparações entre as formulações anestésicas demonstraram a perda reversível dos reflexos motores nos animais utilizados, evidenciando uma menor intensidade do bloqueio motor no grupo (C), (microesfera de bupivacaína em excesso enantiomérico de 50%) (Tabela II).

Avaliações das concentrações de droga no plasma

Os animais que receberam a bupivacaína em excesso enantiomérico de 50% em microesferas apresentaram concentrações plasmáticas acima de 50 ng.dL⁻¹ até o 8º dia. Embora a concentração plasmática de bupivacaína no Grupo C tenha sido superior à concentração de bupivacaína no Grupo B, as diferenças registradas no teste sensitivo (cinco segundos para o Grupo C e oito segundos para o Grupo B no 2º dia), não foram proporcionais à concentração plasmática da droga. Em contrapartida, no momento da não detecção da presença

Tabela I – Resumo dos Testes Sensitivo e Motor e Concentrações Plasmáticas dos Anestésicos Locais

Grupo	Dia ¹	Teste Sensitivo ²	Teste Motor ²	Concentração Plasmática ³
A	2º	1	1	ND
	4º	1	1	ND
	6º	1	1	ND
	8º	1	1	ND
B	2º	8	1	78 ng.mL ⁻¹
	4º	1	1	ND
	6º	2	1	ND
	8º	1	1	ND
C	2º	5	1	ND
	4º	2	1	255,70 ng.mL ⁻¹
	6º	1	1	136,60 ng.mL ⁻¹
	8º	1	1	81,6 ng.mL ⁻¹
D	2º	1	1	ND
	4º	1	1	ND
	6º	1	1	ND
	8º	1	1	ND

1: dia da morte do animal; 2: testes medidos em segundos; 3: ND: não detectado em concentrações > 50 ng.mL⁻¹ de plasma.

Tabela II – Resposta Comparada ao Teste Sensitivo nos Grupos A, B, C, D

	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D	p
1º dia	1,00 (1,00-2,00)	7,00 (1,00-12,00)	2,50 (1,00-12,00)	5,50 (1,00-12,00)	0,004*
2º dia	1,00 (1,00-2,00)	4,00 (1,00-12,00)	3,50 (1,00-10,00)	2,00 (1,00-12,00)	0,01*
3º dia	1,00 (1,00-1,00)	1,00 (1,00-1,00)	1,00 (1,00-4,00)	1,00 (1,00-3,00)	0,03*
4º dia	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (1,00-2,00)	0,88
5º dia	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (1,00-1,00)	0,47
6º dia	1,00 (1,00-1,00)	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (1,00-1,00)	0,55
7º dia	1,00 (1,00-1,00)	1,00 (1,00-1,00)	1,00 (1,00-1,00)	1,00 (1,00-1,00)	1
8º dia	1,00 (1,00-1,00)	1,00 (1,00-1,00)	1,00 (1,00-1,00)	1,00 (1,00-1,00)	1

Anova de Kruskal-Wallis; *: A B, C, D; não se observa diferença entre B, C, D.

Tabela III – Resposta Comparada ao Teste Motor nos Grupos A, B, C, D

	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D	p
1º dia	08 (38,10%)	04 (19,05%)	05 (23,81%)	04 (19,05%)	0,05*
2º dia	16 (30,19%)	12 (22,64%)	15 (28,30%)	10 (18,87%)	0,03**
3º dia	14 (100,00%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	< 0,01
4º dia	12 (100,00%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	< 0,01
5º dia	10 (100,00%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	< 0,01
6º dia	08 (100,00%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	< 0,01
7º dia	06 (100,00%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	< 0,01
8º dia	04 (100,00%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	< 0,01

Teste qui-quadrado de Pearson; *: A B, C, D; **: A B, D; C D.

de bupivacaína no plasma, no Grupo B, interferiu diretamente sobre o bloqueio nervoso e foi comprovado pelo aumento da sensibilidade do animal sobre a placa quente (Tabela III).

DISCUSSÃO

A avaliação dos riscos e benefícios das microesferas foi o objetivo desta pesquisa. As microesferas são polímeros biodegradáveis com diâmetros entre 1 µm e 50 µm que podem incorporar várias drogas. As microesferas diferenciam-se entre si pelo tipo de polímero utilizado e as utilizadas no presente estudo receberam o co-polímero de ácido polilático-co-glicólico (PLGA), que tem capacidade de conter maior quantidade de medicamentos e prolongar a duração do efeito¹⁵. Os polímeros de PLGA são degradados em monômeros ácidos (exemplo: ácido láctico e glicólico) e eliminados do organismo na forma de dióxido de carbono e água^{16,17}. Os anestésicos incorporados às microesferas devem ser liofilizados e

posteriormente reconstituídos em solução aquosa para uso. Graças ao pequeno diâmetro, as microesferas podem ser introduzidas através de agulhas hipodérmicas até a proximidade do tecido nervoso¹⁸, por onde o anestésico local ou outra droga utilizada se difunde pelos microporos e podem produzir um efeito farmacológico prolongando¹⁹.

Os ratos da classe Wistar foram utilizados neste trabalho por diversas razões: são animais comuns em muitos experimentos, o que facilita a comparação entre os vários trabalhos. Têm ciclos de vida curtos e uniformidade genética. Os machos foram escolhidos por apresentarem menos alterações hormonais que as fêmeas. Estes animais foram mantidos em condições que visavam minimizar as variáveis que poderiam interferir nas respostas biológicas de interesse ao experimento. O biotério foi mantido a temperaturas médias de 21°C para evitar mudanças da temperatura ambiental que pudessem levar a respostas adaptativas, com alterações comportamentais, fisiológicas e metabólicas; e que poderiam interferir nos resultados da pesquisa. A umidade do ar foi mantida em torno

de 55% já que os roedores eliminam boa parte do calor corporal pelos pulmões, além de um ambiente mais seco facilitar a evaporação pulmonar da água.

O ambiente foi mantido ventilado para eliminar amônia produzida a partir do nitrogênio da urina e fezes, outra fonte de estresse. Antes do experimento foram criados períodos alternados e regulares de luz e escuridão para a sincronização do ciclo circadiano. Isto porque a intensidade luminosa e o foto período (duração do dia) influenciam o metabolismo e o ciclo estral dos animais, alterando suas respostas biológicas. O isolamento total do biotério em relação à luz natural permitiu o controle da intensidade luminosa e conseqüentemente do foto período. Foram utilizadas luzes fluorescentes brancas que emitem menos calor. Como os roedores têm audição apurada, o ambiente foi mantido com baixas taxas de ruído para reduzir o estresse ²⁰.

O bloqueio do nervo ciático foi realizado com o halotano nos ratos sob anestesia geral porque as punções sob essa anestesia são mais precisas e as taxas de sucesso maiores ²¹. Considerou-se que a agulha estava próxima o suficiente do nervo ciático quando havia resposta motora às correntes de 0,2 mA no estimulador de nervo periférico ²².

O reflexo de retirada em resposta ao contato com uma chapa quente foi o teste nociceptivo utilizado no experimento. Este reflexo envolve a contração dos músculos flexores do quadril, joelho e tornozelo. É um reflexo polissináptico induzido pela estimulação nociva do membro e sua latência, amplitude e duração estão na dependência da intensidade do estímulo. Estímulos sensoriais muito intensos e muito frequentes poderiam produzir hiperalgesia, fato que poderia induzir erro de interpretação por reduzir o limiar de sensibilidade do nervo.

Por isso, limitou-se a temperatura da placa e a frequência do estímulo. O nervo ciático foi escolhido pelo seu diâmetro e facilidade de acesso, tornando a punção mais fácil e precisa ^{22,23}. Portanto, o nervo ciático se constitui no ponto de partida para o estudo de anestésicos locais em animal intacto, compondo com as investigações *in vitro* os requisitos da fase pré-clínica de novos compostos, antes das fases de investigação no homem. A avaliação da eficácia anestésica sensorial foi baseada na observação do comportamento dos animais de experimentação ao estímulo térmico nociceptivo, caracterizado pela troca rápida do apoio dos pés ("sapateado"), pelos gestos de lambar, morder ou levantar uma das patas quando colocados sobre uma superfície aquecida a mais de 50°C. Este modelo já foi testado com bons resultados em outras pesquisas ¹². É importante enfatizar que embora a inervação sensitiva da pata seja mediada pelo nervo ciático, as flexões do quadril e do joelho, necessárias para remover a pata da placa quente, são mediadas pelo nervo femoral, que não sofreu bloqueio nervoso.

Conseqüentemente, este teste foi específico para avaliar o bloqueio sensitivo. Sob essas condições, a pata foi estimulada de uma forma mais restrita. Esta avaliação difere de outros métodos de ensaio como a imersão em água quente, quando uma área maior é estimulada, havendo outras contribuições sensitivas além da possibilidade de induzir erros.

A temperatura de 56°C foi escolhida porque representa um estímulo intenso e permite distinguir mais claramente o bloqueio sensorial dos efeitos analgésicos mais suaves. O nervo ciático dos ratos foi localizado com o auxílio de estimulador de nervo periférico. Este é um método tradicional e confiável para localizar nervos periféricos de tal forma que se pode assegurar que o anestésico local, acondicionado em microesferas ou na forma livre, foi depositado junto ao nervo ciático dos ratos estudados, eliminando a falha técnica.

No presente estudo não foram observadas diferenças na duração do bloqueio sensitivo ou na neurotoxicidade do anestésico local na forma de microesferas ou na forma livre. A latência para a retirada da pata da placa nos ratos foi semelhante nos grupos que receberam a bupivacaína livre ou em microesferas. No 3º dia, a sensibilidade ao estímulo térmico dos ratos que haviam recebido a bupivacaína não diferia do grupo controle, estimando-se em 48 horas a duração da analgesia para os grupos que receberam infiltração com o anestésico local.

Duração de bloqueio sensitivo desta magnitude ou maior tem sido descrita para a bupivacaína em microesferas, mas não para a bupivacaína e a mistura enantiomérica livre. Em regra, a duração da bupivacaína livre quando utilizada em infiltração de nervo periférico não ultrapassa 24 horas. Não há explicação para a maior duração do bloqueio sensitivo observado com a mistura enantiomérica livre. Tanto estudos experimentais quanto clínicos demonstram sistematicamente que o encapsulamento da bupivacaína em microesferas prolonga a duração do efeito sensitivo dos anestésicos locais. Por exemplo, a aplicação de bupivacaína em microesferas em nervo ciático de ratos ²⁴ causou bloqueio sensitivo que variou entre dez horas e 5,5 dias. A adição da dexametasona ao anestésico local nas microesferas prolongou em até 13 vezes a duração do bloqueio sensitivo quando comparado com a bupivacaína livre. Em seres humanos voluntários, a duração do bloqueio intercostal após a injeção de bupivacaína em esferas *versus* bupivacaína livre, associada ou não à dexametasona, foi significativamente maior no grupo da que recebeu a dexametasona associada ao anestésico local em microesferas ²⁵.

Efeito potencializador da dexametasona associada à bupivacaína em microesferas em infiltração subcutânea foi observado em voluntários humanos ²⁶. No presente estudo, houve diferença significativa nas estatísticas de duração do bloqueio motor. Os animais que receberam a mistura enantiomérica da bupivacaína em microesferas (Grupo C) tiveram menos tempo de bloqueio motor que os demais. Esta diferença na duração do bloqueio motor das formas levóginas da bupivacaína também observada em outros estudos experimentais e clínicos ^{27,28}, poderia ser imputada à maior fração do componente levógiro presente na bupivacaína em excesso enantiomérico. De fato, 75% da mistura enantiomérica da bupivacaína e 50% na bupivacaína são levógiros. Mas quando a duração do bloqueio motor das bupivacaínas racêmica em microesferas ou livre é comparada, observa-se maior duração do bloqueio motor na bupivacaína em microesferas

conforme demonstrado em estudo com coelhos submetidos à anestesia epidural²⁹.

Alguns animais foram mortos para análise das concentrações sanguíneas do anestésico local. A média das concentrações plasmáticas do anestésico local foi maior no grupo que recebeu a mistura enantiomérica, no entanto, essa diferença não atingiu significância estatística. Estudo em ovelhas não registrou concentração plasmática clinicamente relevante da bupivacaína após injeção no plexo braquial. A análise histopatológica sugere não haver diferenças significativas entre os vários grupos. Em nenhum caso houve alterações clínicas nos animais, embora um animal do grupo de mistura enantiomérica tenha apresentado crise convulsiva.

Este animal tinha concentração plasmática de bupivacaína quatro vezes abaixo do limiar de toxicidade do sistema nervoso central em seres humanos ou ratos²⁴, sugerindo outra causa para a convulsão, talvez o estresse durante o experimento³⁰.

A despeito das claras diferenças entre ratos e humanos em termos de métodos, doses e volumes de solução anestésica, os resultados demonstrados nas condições deste estudo revelaram que a bupivacaína na forma levógira ou racêmica, encapsuladas ou não em microesferas, não diferiram entre si quanto à duração do bloqueio sensitivo e parâmetros farmacocinéticos. O estudo sugere também que a bupivacaína enantiomérica causa bloqueio motor mais curto.

REFERÊNCIAS / REFERENCES

- Borgeat A, Ekatomramis G, Schenker CA – Postoperative nausea and vomiting in regional anesthesia. A review. *Anesthesiology*, 2003;98:530-547.
- Scurlock JE, Curtis BM – Tetraethylammonium derivatives: ultralong-acting local anesthetics. *Anesthesiology*, 1981;54:265-269.
- Lipfert P, Seitz RJ, Amdt JO – Ultralong-lasting nerve block: triethyldecyl ammonium bromide is probably a neurotoxin rather than a local anesthetic. *Anesthesiology*, 1987;67:896-904.
- Mulroy MF, Larkin KL, Batra MS et al. – Femoral nerve block with 0.25% or 0.5% bupivacaine improves postoperative analgesia following outpatient arthroscopic anterior cruciate ligament repair. *Reg Anesth Pain Med*, 2001;26:24-29.
- Ilfeld BM, Esener DE, Morey TE, et al. – Ambulatory perineural infusion: The patients' perspective. *Reg Anesth Pain Med*, 2003;28:418-423.
- Neal JM, Hebl JR, Gerancher JC et al. – Brachial plexus anesthesia: essentials of our current understanding. *Reg Anesth Pain Med*, 2002;27:402-428.
- Legros F, Luo H, Bourgeois I et al. – Influence of different liposomal formulation on the pharmacokinetics of encapsulated bupivacaine. *Anesthesiology*, 1990;73(Suppl 3A):A851.
- Blanco MD, Bernardo MV, Gomes C et al. – Bupivacaine-loaded comatrix formed by albumin microspheres included in a poly(lactide-co-glycolide) film: in vivo biocompatibility and drug release studies. *Biomaterials*, 1999;20:1919-1924.
- Araújo DR, Pinto LM, Braga AFA et al. – Formulações de anestésicos locais de liberação prolongada: aplicações terapêuticas. *Rev Bras Anestesiologia*, 2003;53:663-671.
- Araújo DR, Fraceto LF, Braga AFA et al. – Sistemas de liberação controlada com bupivacaína racêmica (S50-R50) e mistura enantiomérica de bupivacaína (S75 R25): Efeitos da complexação com ciclo-dextrinas no bloqueio do nervo ciático em camundongos. *Rev Bras Anestesiologia*, 2005;55:316-328.
- Estebe JP, Corre PL, Maldant Y et al. – Prolongation of spinal anesthesia with bupivacaine-loaded (DL- Lactide) microspheres. *Anesth Analg*, 1995;81:99-103.
- Masters DB, Berde CB, Dutta SK et al. – Prolonged regional nerve blockade by controlled release of local anesthetic from a biodegradable polymer matrix. *Anesthesiology*, 1993;79:340-346.
- Tanaka PP, Estêbe JP, Campos R et al. – Preparação, caracterização e avaliação in vitro de microesferas de bupivacaína em excesso enantiomérico de 50% (S75-R25). *Rev Bras Anestesiologia*, 2008;58(1):15-22.
- Thalhammer JC, Vladimirova M, Bershadsky B et al. – Neurological evaluation of the rat during sciatic nerve block with lidocaine. *Anesthesiology*, 1995;82:1013-25.
- Le Corre P, Estêbe JP, Clément R et al. – Spray-dried bupivacaine-loaded microspheres: in vitro evaluation and biopharmaceutics of bupivacaine following brachial plexus administration in sheep. *Int J Pharm*, 2002;238:191-203.
- Ito Y, Hasuda H, Morimatsu M et al. – A microfabrication method of a biodegradable polymer chip for a controlled release system. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2005;16:949-955.
- Wakiyama N, Juni K, Nakano M – Preparation and evaluation in vitro of polylactic acid microspheres containing local anesthetics. *Chem. Pharm. Bull (Tokyo)*, 1981;29:3363-3368.
- Le Corre P, Estêbe JP, Chevanne F et al. – Spinal controlled delivery of bupivacaine from DL-lactic acid oligomer microspheres. *J Pharm Sci*, 1995;84:75-78.
- Rose JS, Neal MN, Kopacz DJ – Extended-Duration Analgesia: Update on Microspheres and Liposomes. *Reg Anesth Pain Med*, 2005;30:275-285.
- Stephan FK, Zucker I – Rat drinking rhythms: central visual pathways and endocrine factors mediating responsiveness to environmental illumination. *Physiol Behav*, 1972;8(2):315-326.
- Hu D, Hu R, Berde CB – Neurologic evaluation of infant and adult rats before and after sciatic nerve blockade. *Anesthesiology*, 1997;86:957-965.
- Grant GJ, Vermeulen K, Zakowski MI et al. – A sciatic nerve model for independent assessment of sensory and motor block induced by local anesthetics. *Anesth Analg*, 1992;75:889-894.
- Feldman HS, Covino BG – Comparative motorblocking effects of bupivacaine and ropivacaine, a new amino amide local anesthetic, in the rat and dog. *Anesth Analg*, 1988;67:1047-1052.
- Curley J, Castillo J, Hotz J et al. – Prolonged regional nerve block. Injectable biodegradable bupivacaine – polyester microspheres. *Anesthesiology*, 1996;84:1401-1410.
- Kopacz DJ, Lacouture PG, Wuk D et al. – The dose response and effects of dexamethasone on bupivacaine microcapsules for intercostal blockade (T9-T11) in healthy volunteers. *Anesth Analg*, 2003;96:576-582.
- Pedersen JL, Lillesø J, Hammer NA et al. – Bupivacaine in microcapsules prolongs analgesia after subcutaneous infiltration in humans: a dose finding study. *Anesth Analg*, 2004;99:912-918.
- Foster RH, Markham A Levobupivacaine: a review of its pharmacology and use as a local anaesthetic. *Drugs*, New York, 2000;59:551-579.
- Simonetti MPB, Valinetti EA, Ferreira FM – Avaliação da atividade anestésica local da S(-) bupivacaína: estudo experimental in vivo em nervo ciático de rato. *Rev Bras Anestesiologia*, 1997;47:425-434.
- Malinovsky JM, Bernard JM, Corre PL et al. – Motor and blood pressure effects of epidural sustained release bupivacaine from polymer microspheres: a dose respond study in rabbits. *Anesth Analg*, 1995;81:519-524.
- Estebe JP, Myers RR – Amitriptyline neurotoxicity. Dose-related pathology after topical topical application to rat sciatic nerve. *Anesthesiology*, 2004;100:1519-25.

Resumen: Oliveira RM, Tanaka PP, Tenório SB – Evaluación del Uso de Microesferas de Bupivacaína en Exceso Enantiomérico del 50% después del Bloqueo del Nervio Ciático de Ratonos.

Justificativa y objetivos: Alcanzar mejores beneficios terapéuticos de los anestésicos locales en el control del dolor postoperatorio a través de portadores de liberación controlada. Este estudio quiso establecer la comparación de las características de los bloqueos sensitivo y motor entre las microesferas sin anestésico local; microesferas con bupivacaína racémica encapsulada; microesferas con bupivacaína en exceso enantiomérico al 50% y bupivacaína en exceso enantiomérico al 50% sin las microesferas.

Método: Se usaron ratones (Wistar) divididos en cuatro grupos: A (Microesfera); B (Microesfera de bupivacaína S50-R50); C (Microesfera de Bupivacaína en exceso enantiomérico de 50%); D (Bupivacaína en exceso enantiomérico de 50%). La anestesia inhalatoria fue realizada previamente al bloqueo del nervio ciático (halotano al 2% y O₂ al 100%). El bloqueo sensorial se midió por el tiempo exigido para que cada ratón retirase la pata de una placa caliente a 56°C (positivo > 4 s). El bloqueo motor fue medido por el tiempo entre la inyección del medicamento hasta la recuperación de la puntuación 2 de criterio establecido.

Resultados: En los grupos B, C y D la respuesta sensitiva fue significativamente más frecuente que en el Grupo A ($p < 0,001$). Entre los Grupos B, C y D no se observaron diferencias estadísticamente significativas de respuesta positiva al test sensitivo ($p > 0,05$). En los Grupos B, C y D, la respuesta al test motor también fue significativamente más frecuente que en el grupo A ($p = 0,02$). En los Grupos B y D, se observó una tendencia a una mayor positividad para el test motor que en el Grupo C ($p = 0,10$).

Conclusiones: La liberación controlada de microesfera de bupivacaína en exceso enantiomérico de 50%, presentó un resultado similar con relación a la analgesia cuando se le comparó con las otras formulaciones anestésicas y un menor bloqueo motor.

Descriptorios: ANESTÉSICOS, Local, bupivacaína; ANIMAL, Ratón; DOLOR, Postoperatoria.