

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

**MARIA CRISTINA VOLPATO  
CIRURGIÃ-DENTISTA**

**ESTUDO DA TOXICIDADE AGUDA (DL<sub>50</sub> E DC<sub>50</sub>)  
DA LIDOCAÍNA E PRILOCAÍNA, QUANDO COMBINADAS  
COM UMA ASSOCIAÇÃO DE DOIS VASOCONSTRITORES  
(ADRENALINA E FELIPRESSINA)**

**ORIENTADOR: PROF. DR. JOSÉ RANALI - FOP/UNICAMP**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia  
de Piracicaba da Universidade Estadual de  
Campinas, para obtenção do título de Doutor em  
Odontologia - Área de Farmacologia

**Piracicaba - S.P.  
1995**

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

*Est exemplar  
já devidamente  
conferido conforme  
resolução C.O.F.B./036/83  
Piracicaba 27/12/95*

*J. R. Ranali  
27/12/95*

*907-000/102*

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	V888e
V.	Ex
TOMBO BC/	26735
PROC.	067/96
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	07/29/96
N.º CPD	

CM-00084821-0

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca da FOP-UNICAMP.

V888e Volpato, Maria Cristina.  
 Estudo da toxicidade aguda (DL<sub>50</sub> e DC<sub>50</sub>) da lidocaína e prilocaína quando combinadas a uma associação de dois vasoconstritores (adrenalina e felipresina) / Maria Cristina Volpato. - Piracicaba, S.P. : [s.n.], 1995.  
 75f. : il.  
 Orientador : José Ranali.  
 Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.  
 1. Anestesia local. 2. Adrenalina. 3. Drogas - toxicologia. I. Ranali, José. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.  
 19.CDD - 615.781

Índices para Catálogo Sistemático

Anestésicos 615.781



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de Doutorado, em sessão pública realizada em 14/12/95, considerou a candidata aprovada.

1. José Ranali

2. Thales Rocha de Mattos Filho

3. Eduardo Dias de Andrade

4. Antonio Renzi

5. Mário Francisco Real Gabrielli

A meus pais, **JOSÉ** e **MARIA** pelo amor,  
apoio e presença constante em todas as  
etapas de minha vida.

A **FERNANDO**, por fazer tudo valer a pena.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. **JOSÉ RANALI**, não apenas pela orientação deste trabalho, mas pela amizade ao longo desses anos.

Aos colegas da Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica, **EDUARDO, FRANCISCO, PEDRO** e **THALES**, pela convivência e incentivo.

Ao Prof. **FRANCISCO CARLOS GROPPPO**, da Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica, pela inestimável colaboração na confecção dos gráficos e tabelas.

Às Profas. Dra. **CLARICE GARCIA BORGES DEMÉTRIO** do Departamento de Matemática e Estatística da ESALQ/USP e **LICIANA VAZ DE ARRUDA SILVEIRA CHALITA** do Departamento de Bioestatística do IB/UNESP - Botucatu, pela análise estatística dos resultados.

Ao Prof. **ANTONIO LUIZ RODRIGUES JÚNIOR** do Departamento de Odontologia Social da Faculdade de Farmácia e Odontologia de Araraquara, pela amizade e solicitude durante a realização deste trabalho.

À Profª. **ÍRIA MARISA GEVARTOSKY DO AMARAL**, pelo estímulo e colaboração no desenvolvimento da fase experimental deste estudo.

À Profª. **WADED ANTONIO**, pela correção do texto.

Ao Sr. **LOUIS DRUMMOND PALMER**, pela correção do resumo em inglês.

À Sra. **SUELI DUARTE DE OLIVEIRA SOLIANI**, diretora técnica da biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela correção das referências bibliográficas.

Aos Srs. **ADEMIR MARIANO** e **JOSÉ CARLOS GREGÓRIO**, técnicos do laboratório de Farmacologia, pelo auxílio no cuidado e manejo dos animais utilizados nesta pesquisa.

À Srta. **MARIA ELISA DOS SANTOS**, secretária da Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica, pela amizade, competência e dedicação demonstradas.

À Sra. **ANA MARIA COSSA DE ARRUDA OLIVEIRA**, secretária da CPG, pelos serviços prestados.

À **CRISTÁLIA PRODUTOS QUÍMICOS FARMACÊUTICOS LTDA**, pela preparação das soluções anestésicas utilizadas neste trabalho.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

	página
1. LISTAS.....	1
1.1. Lista de tabelas, Gráficos e Quadros.....	1
1.2. Lista de abreviaturas.....	4
2. RESUMO.....	6
3. INTRODUÇÃO.....	8
4. REVISÃO DA LITERATURA.....	10
4.1. Anestésicos Locais.....	10
4.2. Vasoconstritores.....	11
4.3. Associação de Vasoconstritores.....	20
5. PROPOSIÇÃO.....	25
6. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
6.1. Estudo da Dose Letal ( $DL_{50}$ ) e da Dose Convulsiva ( $DC_{50}$ ).....	27
6.2. Determinação dos Períodos de Latência para Perda de Refle- xo de Orientação (PRO), Convulsão e Duração da Convulsão.....	28
6.3. Análise Estatística.....	29
6.3.1. Análise Estatística da DL e DC (Ensaio Tipo Dose- Resposta).....	29
6.3.2. Análises de Dados Censurados.....	31
7. RESULTADOS.....	32
7.1. Dose Letal.....	32
7.2. Dose Convulsiva.....	36
7.3. Estudo da Perda de Reflexo de Orientação, Latência da Convulsão e Duração da Convulsão.....	39
8. DISCUSSÃO.....	45
9. CONCLUSÕES.....	53
10. ANEXOS.....	54
11. SUMMARY.....	61
12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63

## 1. LISTAS

1.1. Lista das tabelas, gráficos e quadros presentes no texto	página
- Tabela 1. Ajuste do modelo logístico de $DL_{50}$ para os grupos que continham lidocaína como anestésico local.	32
- Tabela 2. Estimativas das Doses Letais 50% ( $DL_{50}$ ), expressas em mg/kg de peso corporal, via subcutânea, erro padrão (ep), equações das retas e intervalo de confiança (95%) dos grupos experimentais que apresentavam a lidocaína como agente anestésico.	33
- Gráfico 1. Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método DELTA para $DL_{50}$ dos grupos contendo lidocaína como agente anestésico.	33
- Gráfico 2. Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método FIELLER para $DL_{50}$ dos grupos contendo lidocaína como agente anestésico.	33
- Quadro 1. Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método DELTA para $DL_{50}$ dos grupos contendo lidocaína.	33
- Quadro 2. Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método FIELLER para $DL_{50}$ dos grupos contendo lidocaína.	33
- Tabela 3. Ajuste do modelo logístico para a $DL_{50}$ dos grupos que continham prilocaína como anestésico local.	34
- Tabela 4. Estimativas das Doses Letais 50% ( $DL_{50}$ ), expressas em mg/kg de peso corporal, via subcutânea, erro padrão (ep), equações das retas e intervalo de confiança (95%) dos grupos experimentais que apresentavam a prilocaína como agente anestésico.	34
- Gráfico 3. Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método DELTA para $DL_{50}$ dos grupos contendo prilocaína como agente anestésico.	34
- Gráfico 4. Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método FIELLER para $DL_{50}$ dos grupos contendo prilocaína como agente anestésico.	34
- Quadro 3. Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método DELTA para $DL_{50}$ dos grupos contendo prilocaína.	35
- Quadro 4. Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método FIELLER para $DL_{50}$ dos grupos contendo prilocaína.	35
- Tabela 5. Ajuste do modelo logístico de $DL_{50}$ para a solução de adrenalina.	35
- Tabela 6. Estimativa da Dose Letal 50% ( $DL_{50}$ ), expressa em mg/kg de peso corporal, via subcutânea, erro padrão (ep), equação da reta e intervalo de confiança (95%) da solução de adrenalina a 2 mg/ml (grupo 21).	35
- Tabela 7. Ajuste do modelo logístico, de $DC_{50}$ para os grupos que continham lidocaína como anestésico local.	36

- Tabela 8. Estimativas das Doses Convulsivas 50% ( $DC_{50}$ ), expressas em mg/kg de peso corporal, via subcutânea, erro padrão (ep), equações das retas e intervalo de confiança (95%) dos grupos experimentais que apresentavam a lidocaína como agente anestésico. 36
- Gráfico 5. Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método DELTA para  $DC_{50}$  dos grupos contendo lidocaína como agente anestésico. 37
- Gráfico 6. Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método FIELLER para  $DC_{50}$  dos grupos contendo lidocaína como agente anestésico. 37
- Quadro 5. Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método DELTA para  $DC_{50}$  dos grupos contendo lidocaína. 37
- Quadro 6. Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método FIELLER para  $DC_{50}$  dos grupos contendo lidocaína. 37
- Tabela 9. Ajuste do modelo logístico de  $DC_{50}$  para os grupos que continham prilocaína como anestésico local. 37
- Tabela 10. Estimativas das Doses Convulsivas 50% ( $DC_{50}$ ), expressas em mg/kg de peso corporal, via subcutânea, erro padrão (ep), equações das retas e intervalo de confiança (95%) dos grupos experimentais que apresentavam a prilocaína como agente anestésico. 38
- Gráfico 7. Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método DELTA para  $DC_{50}$  dos grupos contendo prilocaína como agente anestésico. 38
- Gráfico 8. Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método FIELLER para  $DC_{50}$  dos grupos contendo prilocaína como agente anestésico. 38
- Quadro 7. Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método DELTA para  $DC_{50}$  dos grupos contendo prilocaína. 38
- Quadro 8. Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método FIELLER para  $DC_{50}$  dos grupos contendo prilocaína. 38
- Gráfico 9. Curvas da probabilidade de um animal estar no estado latente para a PRO em função do tempo (em minutos) para os grupos contendo lidocaína como sal anestésico. 39
- Gráfico 10. Curvas da probabilidade de um animal estar no estado latente para a convulsão em função do tempo (em minutos) para os grupos contendo lidocaína como sal anestésico. 40
- Gráfico 11. Curvas da probabilidade de um animal estar no estado convulsivo em função do tempo (em minutos) para os grupos contendo lidocaína como sal anestésico. 41
- Gráfico 12. Curvas da probabilidade de um animal estar no estado latente para a PRO em função do tempo (em minutos) para os grupos contendo prilocaína como sal anestésico. 42



- Gráfico 13. Curvas da probabilidade de um animal estar no estado latente para a convulsão em função do tempo (em minutos) para os grupos contendo prilocaína como sal anestésico. 43
- Gráfico 14. Curvas da probabilidade de um animal estar no estado convulsivo em função do tempo (em minutos) para os grupos contendo prilocaína como sal anestésico. 44
- Tabela 11. Estimativas de  $DL_{50}$  da lidocaína, lidocaína com adrenalina e lidocaína com felipressina (em mg/kg), via subcutânea em camundongos, publicadas por vários autores. 45
- Tabela 12. Estimativas de  $DL_{50}$  da prilocaína, prilocaína com adrenalina e prilocaína com felipressina (em mg/kg), via subcutânea em camundongos, publicadas por vários autores. 50
- Tabelas do número de animais mortos em função das doses utilizadas para cada um dos grupos contendo lidocaína no estudo da Dose Letal 50% (via subcutânea). 54
- Tabelas do número de animais mortos em função das doses utilizadas para cada um dos grupos contendo prilocaína no estudo da Dose Letal 50% (via subcutânea). 55
- Tabelas do número de animais mortos em função das doses utilizadas para o estudo da Dose Letal 50% dos vasoconstritores adrenalina (via subcutânea) e felipressina (vias subcutânea e intraperitoneal). 56
- Tabelas do número de animais que entraram em convulsão em função das doses utilizadas para cada um dos grupos contendo lidocaína no estudo da Dose Convulsiva 50% (via subcutânea). 57
- Tabelas do número de animais que entraram em convulsão em função das doses utilizadas para cada um dos grupos contendo prilocaína no estudo da Dose Convulsiva 50% (via subcutânea). 58
- Tabelas de Latência da PRO, Latência da Convulsão e Duração da Convulsão (em minutos) para os grupos contendo lidocaína. 59
- Tabelas de Latência da PRO, Latência da Convulsão e Duração da Convulsão (em minutos) para os grupos contendo prilocaína. 60

## 1.2. Lista das abreviaturas e siglas utilizadas no texto

adr	adrenalina
apud	citado por
conc	concentração
DC <sub>50</sub>	dose convulsiva em 50% da população
DL <sub>50</sub>	dose letal em 50% da população
Dev.	"deviance"
e.p.	erro padrão
et al	et alii = e outros
ex.	exemplo
fel	felipressina
g	grama
g/kg	grama por quilograma
G.L.	graus de liberdade
lido	lidocaína
±	mais ou menos
µg	micrograma
µg/kg	micrograma por quilograma
µg/ml	micrograma por mililitro
mg	miligrama
mg/kg	miligrama por quilograma
mg/ml	miligrama por mililitro
ml	mililitro
n <sup>o</sup>	número
op. cit.	opus citatum = obra citada
pH	menos logaritmo da concentração de íons hidrogênio
pKa	constante de dissociação da droga
PLV2	fenilalanina lisina vasopressina
pr > $\chi^2$	probabilidade maior que qui-quadrado
prilo	prilocaina
PRO	perda de reflexo de orientação
%	por cento
Ref.	referência
Reg.	regressão
Res.	resíduo

s.p.f. "specific pathogen free" = livre de patógenos específicos  
UI/ml unidades internacionais por mililitro  
 $\chi^2$  qui-quadrado

## 2. RESUMO

Propôs-se neste trabalho avaliar a toxicidade aguda de uma solução de anestésico local (lidocaína a 2% - lido ou prilocaína a 3% - prilo) quando combinada à associação de dois vasoconstritores adrenalina (adr) e felipressina (fel).

A toxicidade foi avaliada através da determinação da  $DL_{50}$ ,  $DC_{50}$  (respectivamente dose letal e dose convulsiva em 50% da população), latência da perda de reflexo de orientação (PRO) e latência e duração da convulsão. Foram utilizados 2290 camundongos Swiss machos (17-22g), os quais foram divididos aleatoriamente nos grupos: G1-  $PF_1A_1$  (prilo + fel 0,01 UI/ml + adr 1:100.000), G2-  $PF_1A_2$  (prilo + fel 0,01 UI/ml + adr 1:200.000), G3-  $PF_1A_3$  (prilo + fel 0,01 UI/ml + adr 1:300.000), G4-  $LF_1A_1$  (lido + fel 0,01 UI/ml + adr 1:100.000), G5-  $LF_1A_2$  (lido + fel 0,01 UI/ml + adr 1:200.000), G6-  $LF_1A_3$  (lido + fel 0,01 UI/ml + adr 1:300.000), G7-  $PA_2$  (prilo + adr 1:200.000), G8-  $LA_1$  (lido + adr 1:100.000), G9-  $PF_3$  (prilo + fel 0,03 UI/ml), G10-  $LF_3$  (lido + fel 0,03 UI/ml), G11- L (lido), G12- P (prilo).

Também foram administradas as soluções contendo apenas os vasoconstritores ou o veículo da solução em dose equivalente às máximas utilizadas para cada grupo (administração via subcutânea no dorso- 10 animais/dose). Os animais foram observados por 48 horas ( $DL_{50}$ ) e 1 hora ou até voltarem ao normal ( $DC_{50}$ ).

Os cálculos da  $DL_{50}$  e  $DC_{50}$  foram feitos pelo pacote estatístico GLIM (método logístico), e os resultados, comparados através dos intervalos de confiança obtidos pelo método Fieller. A análise estatística da latência da PRO e latência e duração da convulsão foram feitas através do estimador produto limite de Kaplan Meier, sendo os grupos comparados pelo teste de Log-Rank.

Os resultados da  $DL_{50}$  mostraram que tanto para a lidocaína, quanto para a prilocaína, as soluções que continham adrenalina em maior concentração foram as mais tóxicas ( $LA_1$ ,  $LF_1A_1$ ,  $LF_1A_2$ ,  $PF_1A_1$ ,  $PF_1A_2$ ). Não houve qualquer alteração nos grupos controle.

Para a  $DC_{50}$  os resultados foram opostos, ou seja, as soluções contendo maior concentração de adrenalina promoveram maior proteção ao animal, bem como a solução de felipressina 0,03 UI/ml.

Na segunda parte do estudo foi observado para a lidocaina um aumento da latência da PRO por todas as soluções contendo vasoconstritor. A latência da convulsão foi aumentada de forma mais significativa pelos grupos com maior concentração de adrenalina ( $LF_1A_1$  e  $LA_1$ ), bem como pela solução  $LF_3$ . Uma vez iniciada a convulsão, entretanto, não havia diferença estatística entre os grupos na duração da mesma. Para a prilocaina não foram observadas diferenças entre os grupos para a latência PRO e latência e duração da convulsão.

Concluiu-se que, em termos de toxicidade, dentro do modelo experimental estudado, não há vantagem na associação de dois vasoconstritores como a adrenalina e felipressina, visto que apenas as associações em maior concentração ( $PF_1A_1$  e  $LF_1A_1$ ) foram mais efetivas em reduzir a toxicidade no estudo de  $DC_{50}$  que as demais.

**Palavras-Chave:** anestesia local, adrenalina, drogas-toxicologia.

### 3. INTRODUÇÃO

A associação de drogas com efeitos semelhantes não é idéia nova e já vem sendo utilizada há algum tempo com vários tipos de medicamentos.

O trimetoprim-sulfametoxazol é um exemplo bastante conhecido. Agindo no mesmo processo de síntese da bactéria (síntese do folato), mas em etapas diferentes, o uso concomitante permite um aumento da eficiência desses antimicrobianos com a conseqüente diminuição da resistência bacteriana (GOODMAN & GILMAN, 1991). Em anestesiologia esse princípio também tem sido considerado.

A combinação de agentes anestésicos locais com tempos de latência e duração de efeitos distintos tem sido proposta para a obtenção de anestesia de rápida instalação e de duração apropriada (BRODSKY & BROCK-UTNE, 1978; JONG & BONIN, 1981). É o que ocorre com a associação de bupivacaína (latência longa - até 6 a 10 minutos e longa duração - até 3 horas para a anestesia pulpar e 9 horas para tecidos moles) e lidocaína (curto período de latência 2 a 3 minutos e menor duração da anestesia). Nesse caso, os estudos de JONG & BONIN (1980 e 1981) mostram ainda que as associações bupivacaína-cloroprocaína e bupivacaína-lidocaína não são mais tóxicas que as drogas usadas isoladamente.

Em alguns casos a associação é mais eficaz que cada um dos componentes, como ocorre com a benzocaína, o butambeno e a tetracaína (ADRIANI et al, 1981).

Também para os vasoconstritores a idéia da associação parece atraente. NIEF (1974) chegou a propor (sem comprovação experimental) a associação de duas aminas simpatomiméticas - adrenalina e noradrenalina - com o objetivo de reduzir a vasodilatação rebote (devida à adrenalina), bem como a gravidade das reações secundárias decorrentes do uso desses vasoconstritores.

A observação da existência de uma potenciação da ação das catecolaminas pela vasopressina (STAVRAKY & OLIVER, 1952; BARTELSTONE & NASMYTH, 1965) levou ao aparecimento de uma série de estudos em estrutura isolada demonstrando que os vasoconstritores derivados da vasopressina (ornipressina e felipressina, esta última atualmente em uso em

Odontologia) também podem promover um aumento da resposta vasoconstritora das aminas simpatomiméticas - adrenalina e noradrenalina - (WATERSON & HUME, 1973; WATERSON, 1974 e 1975; FROST et al, 1976; GERKE et al, 1977a, GERKE et al, 1978).

Dado o pouco conhecimento sobre a toxicidade dessas combinações, este trabalho teve por objetivo avaliar a toxicidade aguda ( $DL_{50}$  e  $DC_{50}$ , respectivamente, dose letal e dose convulsiva em 50% da população) de uma solução de anestésico local (lidocaína ou prilocaína) quando associada a dois vasoconstritores, felipressina e adrenalina, sendo esta última em cocentrções diferentes.

## 4. REVISÃO DA LITERATURA

### 4.1. Anestésicos Locais

A "era da anestesia local" iniciou-se com as observações de Köler (1884) de que a cocaína, ao ser instilada na córnea, promovia ação anestésica no olho.

Isolada por Niemann em 1860, a cocaína já era usada há séculos por habitantes da região andina (Bolívia e Peru) que mascavam as folhas de coca (*Erythroxylon coca*) pela sensação de bem estar e mitigação da fadiga produzidas pela planta (ROBERTS & SOWRAY, 1995).

Entretanto, a grande toxicidade da cocaína (especialmente porque era usada em altas concentrações), bem como sua capacidade em induzir dependência, levou a pesquisas para síntese de novos compostos com maior especificidade de ação e segurança.

Assim ocorreu com vários ésteres, entre eles a procaína (sintetizada em 1905 por Einhorn) que se tornou o anestésico local padrão na primeira metade do século. A partir da década de 50 a lidocaína (amida sintetizada em 1943 por Löefgren) tomou o lugar da procaína como padrão, e novos compostos desse grupo foram sintetizados como a prilocaína, a mepivacaína, a bupivacaína e a etidocaína, entre outras (ZANINI & OGA, 1989).

A lidocaína, um derivado da anilina introduzido para uso clínico em 1948, é o anestésico local mais utilizado, tendo se tornado o padrão com o qual são comparados todos os novos anestésicos locais.

Comparada à procaína, a lidocaína tem potência e toxicidade maiores, entretanto, sua alergenicidade é quase nula. Além disso, devido ao seu pKa (7,9), possui um início de ação rápido (2 a 3 minutos) e meia-vida de 90 minutos (MALAMED, 1993). Quando não associada a substâncias vasoconstritoras, a duração da anestesia pulpar (5 a 10 minutos) é insuficiente para a realização da maioria dos procedimentos odontológicos. Isto ocorre devido ao bloqueio promovido pela lidocaína sobre a inervação simpática que acompanha os vasos, no local onde o anestésico é injetado. Como consequência desse bloqueio tem-se uma diminuição do tônus da musculatura lisa e a vasodilatação decorrente.



Em Odontologia, a lidocaína é geralmente utilizada na concentração de 2% e associada a um vasoconstritor. A adição de um vasoconstritor eleva a duração da anestesia pulpar para cerca de 60 minutos.

A lidocaína é metabolizada no fígado pelas oxidases microsossomais de função mista em monoetilglicina-xilidida e glicina-xilidida, que podem ser biotransformadas em monoetilglicina e xilidida (GOODMAN & GILMAN, 1991). A excreção se dá por via renal, sendo o principal metabólito, no homem, o 4-hidróxi-2,6-dimetilanilina. Apenas 2,8% de uma dose é excretada de forma inalterada (KEENAGHAN & BOYES, 1972).

A prilocaína, outro anestésico local do tipo amida (sintetizada em 1960 por Löfgren & Tégner), possui a mesma potência anestésica da lidocaína (ÅSTRÖM & PERSSON, 1961; CRAWFORD, 1964), embora seja 40% menos tóxica que esta (ÅKERMAN et al, 1966; MALAMED, 1993).

O início de ação é um pouco mais lento que o da lidocaína (2 a 4 minutos). Da mesma forma, apresenta meia-vida menor que a lidocaína e a mepivacaina (MALAMED, 1993).

A biotransformação da prilocaína se dá no fígado, pulmões e rins (ÅKERMAN et al, 1966), sendo os principais metabólitos a L-N,N-propilamina e a o-toluidina. Esta última pode levar à metemoglobinemia quando a prilocaína é injetada em altas doses - acima de 6 mg/kg ou 400 mg (MALAMED, 1993).

Como possui ação vasodilatadora menor que a lidocaína, pode ser usada na concentração de 4% sem vasoconstritor para anestesia de bloqueio (cerca de 60 minutos de anestesia pulpar). Para a técnica infiltrativa, o uso dessa solução resulta em duração insuficiente de anestesia pulpar (MALAMED, 1993).

#### **4.2. Vasoconstritores**

Para melhorar a qualidade e duração da anestesia, já em 1901, Braun combinou pela primeira vez uma substância vasoconstritora - a adrenalina - com a cocaína.

Sendo os anestésicos locais substâncias vasodilatadoras, a associação dessas drogas com vasoconstritores é feita visando ao aumento da duração da anestesia (KEESLING & HINDS, 1963; GANGAROSA & HALIK, 1967), bem como à diminuição da toxicidade da solução anestésica pelo retardo de sua absorção para a circulação sistêmica (BRAID & SCOT, 1965), além de diminuir o sangramento no local injetado (MEYER & ALLEN, 1968; SVEEN, 1979). Esses benefícios potenciais são influenciados pelo tipo e concentração do anestésico local utilizado e também pelo local de injeção (JASTAK & YAGIELA, 1983).

Entretanto, ao iniciar o uso desse tipo de associação, Braun conseguiu bem mais que aumentar o tempo de anestesia; abriu uma polêmica sobre a segurança do uso de vasoconstritores que continua até hoje.

O problema da toxicidade passou a ser visto de forma mais crítica em relação ao vasoconstritor, especialmente em pacientes com alterações cardiovasculares e principalmente porque, a princípio, essas drogas eram utilizadas em altas concentrações. Vários estudos propõem o uso de soluções de vasoconstritores ainda menos concentradas que as em uso atualmente (KEESLING & HINDS, 1963; GANGAROSA & HALIK, 1967; CARDWELL & CAWSON, 1969; SIEGEL & VISTNES, 1972; KNÖLL-KÖHLER & FÖRTSCH, 1992).

Os vasoconstritores mais utilizados em associação com os anestésicos locais pertencem ao grupo das aminas simpatomiméticas, estando aqui incluídas a adrenalina, a noradrenalina, a levonordefrina e a fenilefrina.

Sendo drogas simpatomiméticas, podem interagir com receptores adrenérgicos ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ) distribuídos por todo o organismo, embora a ação específica de vasoconstrição resulte da interação com receptores  $\alpha_1$  presentes nas paredes das arteríolas.

A diferença na potência vasoconstritora (estimulação de receptores  $\alpha_1$ ) faz com que essas substâncias sejam utilizadas em concentrações diferentes nas soluções anestésicas (CASSIDY et al, 1986).

A adrenalina é a droga mais potente desse grupo, sendo geralmente comercializada em concentrações que variam de 1: 100.000 a 1: 200.000 na forma de tubetes para uso odontológico.

Na administração subcutânea, após a vasoconstrição inicial, pode ocorrer uma vasodilatação rebote em decorrência da maior sensibilidade dos receptores  $\beta$  à adrenalina em concentrações mais baixas. Esse efeito é mais comum com o uso da concentração 1: 50.000 (MALAMED, 1993) e é particularmente importante nas cirurgias orais porque, em grande parte dos casos, pode acontecer quando o paciente já deixou o consultório odontológico. Segundo GOODMAN & GILMAN (1991), entretanto, esta congestão das mucosas após a vasoconstrição seria causada por alterações da reatividade vascular decorrente da hipóxia tecidual ao invés de uma ação sobre receptores  $\beta$  dos vasos da mucosa.

A injeção intravascular acidental ou o uso de grandes doses pode levar a manifestações tóxicas, entre as quais se incluem hipertensão (devido à vasoconstrição periférica - ação em receptores  $\alpha_1$ ), taquicardia (ação em receptores  $\beta_1$  cardíacos), tremores, cefaléia, palpitações e, em raros casos, fibrilação ventricular (CASSIDY et al, 1986).

Muitos são os trabalhos tentando correlacionar a presença ou não de vasoconstritores com alterações na condição cardiovascular do paciente durante o tratamento odontológico.

Apesar de alguns estudos demonstrando não haver alteração estatisticamente significativa nos parâmetros cardiovasculares (taquicardia, hipertensão etc.) de indivíduos normais (LILIENTHAL & REYNOLDS, 1975; PIPERNO & KAIM, 1981) ou de pacientes com alterações cardiovasculares (CHERASKIN & PRASERTSUNTARASAI, 1958; HUOBER, 1969; HIROTA et al, 1986) que receberam soluções anestésicas locais contendo vasoconstritores do tipo amina simpatomimética, outros trabalhos mostram que a alteração ocorre, e pode ser maior dependendo do grau de comprometimento da saúde do indivíduo (ABRAHAM-INPIJN et al, 1988) ou do tipo e da concentração do vasoconstritor utilizado. Neste último aspecto, segundo MEYER (1986), os hipertensos são mais sensíveis à noradrenalina, sendo as concentrações entre 1: 20.000 e 1: 30.000 contra-indicadas nesses pacientes.

Além das aminas simpatomiméticas, a partir da década de 60, um novo grupo de substâncias derivadas da vasopressina começou a ser pesquisado e utilizado em associação com alguns anestésicos locais. Nesse grupo destacam-se a felipressina e a ornipressina, ambos compostos sintéticos.

A felipressina (ou PLV 2), conhecida comercialmente como Octapressin®, é um peptídeo derivado da vasopressina, diferindo desta através da substituição nas posições 2 e 8 da cadeia pelos aminoácidos fenilalanina e lisina, respectivamente. Essas substituições levam a uma diminuição marcada nas atividades antidiurética e ocitócica com seletividade maior pelo efeito vasoconstritor (BERDE et al, 1961; GUHL, 1961).

Assim como a ornipressina, a felipressina difere das aminas simpatomiméticas por não agir sobre os receptores  $\alpha$  e  $\beta$  adrenérgicos. A ação desses peptídeos parece dar-se diretamente sobre a musculatura lisa vascular e, mais especificamente, do lado venoso (LIGHT et al, 1965; ALTURA et al, 1965; WATERSON, 1970; OLGART & GAZELIUS, 1977).

Essa ação maior do lado venoso poderia explicar o menor efeito hemostático desses vasoconstritores em relação à adrenalina (KLINGENSTRÖM et al, 1967; NEWCOMB & WAITE, 1972) embora sejam eficientes em prolongar a duração do bloqueio anestésico e não produzam hipóxia tecidual, o que pode ocorrer com o uso de adrenalina e noradrenalina (KLINGENSTRÖM & WESTERMARK, 1963; PERSSON, 1971; ROBERTS & SOWRAY, 1995). Além disso, a felipressina pode ser usada com segurança em pacientes submetidos à anestesia geral com compostos halogenados ou ciclopropano (KATZ, 1965; LIGHT et al, 1965).

Comparadas com a adrenalina, a felipressina e a ornipressina apresentam uma latência maior (KLINGENSTRÖM et al, 1967; LINDORF, 1979).

Em altas doses, a felipressina pode produzir aumento da pressão arterial sistêmica, diminuição do volume de ejeção, da frequência e trabalho cardíacos, dos fluxos sanguíneos coronário, carotídeo e femoral, do fluxo plasmático renal e da excreção de água e eletrólitos (RIBOT et al, 1963; LONGO et al, 1964; MAXWELL, 1965). Outro efeito colateral relatado por

alguns autores é a palidez, especialmente na região da cabeça e do pescoço (KATZ, 1965; LIGHT et al, 1965; COLLINS, 1972).

Nas doses comumente usadas na prática odontológica não produz alterações significantes na pressão arterial, na frequência e no ritmo cardíacos (AELLIG et al, 1970; LILIENTHAL, 1976).

Embora não haja evidências na literatura de que a felipressina, nas doses utilizadas para anestesia dental, exerça efeitos ocitócicos, o uso desse vasoconstritor tem sido contra-indicado em gestantes. Além da possível interferência no tônus uterino levando a uma diminuição da circulação placentária, a associação com a prilocaína seria outro fator agravante, pois este anestésico local também atravessa a barreira placentária e, em altas doses poderia provocar metemoglobinemia fetal (ROBERTS & SOWRAY, 1995). GREEN & BLUMBERG (1965), estudando o efeito vasoconstritor da felipressina em cirurgias vaginais, não observaram sinais de estimulação uterina em duas pacientes gestantes (6º mês de gravidez).

Em geral, tanto para as aminas simpatomiméticas quanto para a felipressina a ação vasoconstritora depende do local injetado e do tipo e concentração do agente anestésico associado (ASTRÖN & PERSSON, 1965; ÅKERMAN, 1966).

Em função das diferenças na vasodilatação dos anestésicos locais, nas soluções comerciais a lidocaina é associada às aminas simpatomiméticas (adrenalina, noradrenalina e fenilefrina) enquanto que a prilocaína (que possui menor ação vasodilatadora) é associada tanto à adrenalina (1: 200.000) quanto à felipressina (0,03 UI/ml).

Vários estudos têm demonstrado que os anestésicos locais também podem potencializar a resposta constritora dos agentes vasoconstritores. DEASY & DISTEFANO (1972) observaram que a cocaína potenciava as ações da adrenalina e da noradrenalina em tiras de aorta de coelho, enquanto que a procaína e a lidocaina potenciavam as ações da noradrenalina, mas antagonizavam as da adrenalina.

Por outro lado, GERKE et al (1976a), estudando a resposta vascular da artéria central isolada da orelha de coelho, verificaram que a cocaína, a lidocaina e a prilocaína, quando

administradas em baixas concentrações (até 400 µg/ml) à porção extraluminar da artéria, potenciavam a ação da adrenalina. Em concentrações acima de 1000 µg/ml, a lidocaína e a prilocaína promoviam depressão siginificante da resposta. Com a desnervação da artéria, bem como com a aplicação intraluminal, também não foi observada potenciação. Baseados nessas observações e nos achados de IVERSEN (1967) de que a recaptção neuronal tem maior afinidade pela noradrenalina do que pela adrenalina, os autores sugeriram que a lidocaína e a prilocaína potenciavam a resposta vascular através do bloqueio da recaptção. Tendo esta maior afinidade pela noradrenalina, a potenciação era observada apenas em relação à adrenalina.

Essa hipótese foi comprovada em estudos posteriores, utilizando técnica histoquímica (GERKE et al, 1976b) e isótopos - adrenalina e noradrenalina marcadas com trítio (GERKE & FREWIN, 1982).

Os mesmos autores (GERKE et al, 1977b), estudando doses volumétricas crescentes de anestésicos locais, observaram que soluções comerciais de lidocaína e prilocaína, em baixas doses (até 0,4 ml), também potenciavam a resposta vascular à adrenalina em artéria isolada de orelha de coelho, embora esse efeito fosse menor que o produzido por soluções semelhantes preparadas em laboratório. Em doses acima de 0,4 ml, a resposta vascular à adrenalina era deprimida por todas as soluções (prilocaína e lidocaína, comerciais ou preparadas no laboratório).

A toxicidade das associações de anestésicos locais e vasoconstritores também tem sido bastante estudada.

HÖLLER (1952), estudando a toxicidade de várias soluções anestésicas, constatou que a associação de anestésico local a um vasoconstritor levava a um aumento da toxicidade. Nesse trabalho foram obtidos os seguintes valores de  $DL_{50}$  para a administração de lidocaína, via subcutânea, em camundongos: solução sem vasoconstritor - 240 mg/kg, solução com adrenalina 1: 80.000 - 170 mg/kg e solução com L- noradrenalina 1: 100.000 - 200 mg/kg.

O mesmo foi observado por KOELZER & WEHR (1959) que relataram valores de  $DL_{50}$ , via intraperitoneal, em camundongos, de 248 mg/kg e 213 mg/kg para as soluções de lidocaína a 5 % sem vasoconstritor e com adrenalina 1: 50.000, respectivamente.

HENN (1960), por sua vez, observou um pequeno decréscimo da toxicidade da solução de lidocaína quando da adição de adrenalina por via subcutânea ( $DL_{50}$  da lidocaína 2,5 a 3,5 %, em camundongos, via subcutânea (em mg/kg): sem vasoconstritor -  $314 \pm 21$  e  $278 \pm 7$ , com adrenalina -  $317 \pm 52$  e  $310 \pm 14$ ). Pela via intravenosa, entretanto, foi observado efeito oposto. A adição de adrenalina levou a um aumento da toxicidade ( $DL_{50}$ , em mg/kg: sem vasoconstritor -  $30,3 \pm 1,7$ , com adrenalina 1: 100.000 -  $9,0 \pm 3,8$ ).

ÅSTRÖM et al (1964) observaram diferenças de toxicidade ( $DL_{50}$  via subcutânea, em camundongos) entre vários anestésicos ao serem associados à adrenalina em concentrações crescentes. Para a tetracaína a 0,5%, a adição de adrenalina (em todas as concentrações testadas) levava a uma diminuição da toxicidade. Com a prilocaína a 4% havia um aumento da toxicidade, porém só com as concentrações mais altas de adrenalina essa diferença foi estatisticamente significativa. Para este anestésico os valores de  $DL_{50}$  foram os seguintes (em g/kg): prilocaína sem vasoconstritor -  $0,60 \pm 0,05$ ; com adrenalina 1: 400.000 -  $0,45 \pm 0,02$ ; com adrenalina 1: 200.000 -  $0,43 \pm 0,02$ ; com adrenalina 1: 100.000 -  $0,41 \pm 0,03$  e com adrenalina 1: 50.000 -  $0,38 \pm 0,02$ ). O aumento crescente da concentração de adrenalina não resultou em aumento progressivo da toxicidade da procaina a 4% e da lidocaína a 2%. Para esta última foram obtidos os seguintes valores de  $DL_{50}$  (em g/kg): sem vasoconstritor -  $0,34 \pm 0,02$ , com adrenalina 1: 400.000 -  $0,20 \pm 0,01$ ; com adrenalina 1: 200.000 -  $0,20 \pm 0,01$  e com adrenalina 1: 100.000 -  $0,23 \pm 0,01$ ). Neste estudo a  $DL_{50}$  da adrenalina via subcutânea estava entre 4,6 e 5,8 mg/kg.

Para a administração intravenosa, a adição de adrenalina também resultou em diminuição da  $DL_{50}$  (lidocaína 0,25% (em mg/kg): sem vasoconstritor -  $25,0 \pm 1,6$ ; com adrenalina 1: 400.000 -  $20,8 \pm 1,6$ ; prilocaína 0,25% (em mg/kg): sem vasoconstritor -  $45,0 \pm 2,5$ ; com adrenalina 1: 400.000 -  $37,5 \pm 2,5$ ).

Foi observado ainda, neste estudo, que na administração subcutânea os sinais tóxicos se desenvolviam mais lentamente com a prilocaína do que com a lidocaína. A adição de adrenalina

não reduziu a toxicidade desses anestésicos locais, porém retardou o aparecimento de sinais tóxicos apenas quando associada à lidocaína.

ÅKERMAN (1966), estudando soluções de prilocaína e lidocaína em várias concentrações (0,1, 0,2 e 2%) associadas à adrenalina ou à felipressina, observou que, pela via subcutânea, a primeira aumentava a toxicidade aguda de ambos os anestésicos, enquanto que a felipressina promovia o efeito oposto (valores de  $DL_{50}$  (mg/kg): lidocaína sem vasoconstritor  $238 \pm 11$ , com felipressina 0,1 UI/ml  $311 \pm 15$ , com felipressina 0,5 UI/ml  $288 \pm 15$ , com adrenalina 1: 200.000  $212 \pm 11$ , com adrenalina 1: 100.000  $196 \pm 7$ ; prilocaína sem vasoconstritor  $637 \pm 18$ , com felipressina 0,1 UI/ml  $770 \pm 19$ , com felipressina 0,5 UI/ml  $719 \pm 12$ , com adrenalina 1: 200.000  $446 \pm 16$  e com adrenalina 1: 100.000  $386 \pm 14$ ).

Pela via intravenosa, a toxicidade não foi aumentada pela felipressina enquanto as soluções contendo adrenalina revelaram-se mais tóxicas (valores de  $DL_{50}$  (mg/kg): lidocaína sem vasoconstritor  $17,8 \pm 0,9$ , com felipressina 0,1 UI/ml  $26,7 \pm 1,1$ , com felipressina 0,5 UI/ml  $15,8 \pm 1,2$ , com adrenalina 1: 200.000  $13,6 \pm 1,0$ , com adrenalina 1: 100.000  $10,4 \pm 1,0$ ; prilocaína sem vasoconstritor  $35,0 \pm 1,7$ , com felipressina 0,1 UI/ml  $34,3 \pm 2,5$ , com felipressina 0,5 UI/ml  $34,6 \pm 0,6$ , com adrenalina 1: 200.000  $23,6 \pm 1,7$  e com adrenalina 1: 100.000  $18,9 \pm 0,8$ ).

O mesmo autor ÅKERMAN (1969) avaliou a ação da adrenalina e felipressina sobre os sinais de intoxicação sistêmica (perda de reflexo de orientação e convulsão) produzidos pela injeção subcutânea de lidocaína ou prilocaína em doses que produziam convulsões de duração semelhante em camundongos. Neste experimento foi constatado que a adição de adrenalina e felipressina às soluções diminuía a frequência das convulsões e da perda de reflexo de orientação. Nos casos em que estes sinais não desapareceram completamente, a felipressina aumentou o tempo de latência e diminuiu a duração do efeito tóxico. A dose mais efetiva para a felipressina foi de 0,05 UI/ml enquanto a 0,01 UI/ml foi observado um efeito fraco. A adrenalina em pequenas doses foi



eficaz em prolongar a latência das convulsões, mas apenas a concentração mais alta (1: 100.000) levou a um efeito marcado sobre a frequência dos sinais tóxicos e a duração da convulsão.

Preocupados com a toxicidade da injeção intravascular acidental de anestésicos locais e com a observação de estudos anteriores de que a adrenalina potenciava a letalidade intravenosa da lidocaína, YAGIELA & MADSEN (1982) injetaram lidocaína marcada com carbono 14, com e sem adrenalina, em ratos e concluíram que a adrenalina aumentava a proporção do anestésico local que tinha acesso ao sistema nervoso central.

Em estudo posterior YAGIELA (1985) demonstrou ainda que em ratos a toxicidade da lidocaína era maior pela via intravenosa [veia femoral -  $DL_{50}$  e intervalo de confiança (mg/kg) = 27,8 (25,6 - 30,6)] que pela via intra-arterial [artéria carótida interna -  $DL_{50}$  e intervalo de confiança (mg/kg) = 45,0 (32,0 - 60,2)]. A adição de adrenalina 1: 100.000 à solução de lidocaína levou a um aumento da toxicidade [intravenosa = 18,4 mg/kg (14,1 - 24,0), intra-arterial = 27,0 mg/kg (23,3 - 32,0)]. Quando injetada isoladamente, a adrenalina era mais tóxica pela via intra-arterial (intravenosa = 76,7 µg/kg e intra-arterial = 24,5 µg/kg).

TAYLOR & DORRIS (1989) compararam a toxicidade em camundongos ( $DL_{50}$  e  $DC_{50}$ ) da lidocaína e outros anestésicos locais, quando administrados via intravenosa sem vasoconstritor ou com adrenalina ou levonordefrina na dose de 15 µg/kg. Observaram que tanto a adição de adrenalina quanto de levonordefrina não afetava de forma significativa a  $DC_{50}$  e nem a  $DL_{50}$ . Valores de  $DL_{50}$  e intervalo de confiança (em mg/kg): lidocaína sem vasoconstritor 20,4 (18,9 - 22,0), lidocaína com adrenalina 18,6 (16,7 - 20,7), lidocaína com levonordefrina 21,6 (19,6 - 23,8). Valores de  $DC_{50}$  e intervalo de confiança (em mg/kg): lidocaína sem vasoconstritor 17,4 (15,8 - 19), lidocaína com adrenalina 13,8 (11,6 - 15,8), lidocaína com levonordefrina 15,4 (11,4 - 18,4).

Entretanto, em ratos a adrenalina aumentou em 76% a letalidade da lidocaína [(comprovando os resultados obtidos por YAGIELA (1985)], enquanto a levonordefrina não teve efeito significativo na  $DL_{50}$  da lidocaína. Valores de  $DL_{50}$  (em mg/kg) via intravenosa em ratos, e

intervalo de confiança: lidocaína sem vasoconstritor 20,1 (17,9 - 23,2), lidocaína com adrenalina 11,4 (8,5 - 13,3) e lidocaína com levonordefrina 18,6 (14,9 - 22,4).

### 4.3. Associação de vasoconstritores

A potenciação da resposta vasopressora das aminas simpatomiméticas (adrenalina e noradrenalina) pelo extrato da neuro-hipófise começou a ser observada (KEPINOW, 1912; BÖRNER, 1915) poucos anos após o início do uso da adrenalina em soluções de anestésico local.

Em 1952, STAVRAKY & OLIVER observaram que em gatos com secção de medula, após hipofisectomia ou decaptação, havia uma diminuição da efetividade da resposta pressora à adrenalina. A administração via intravenosa de quantidades subclínicas de extrato da hipófise posterior antes ou juntamente com a adrenalina restaurava completamente sua efetividade, resultando em aumento da pressão arterial.

BARTELSTONE & NASMYTH (1965), em um estudo envolvendo vários modelos experimentais (aorta isolada de rato, gatos e ratos com secção de medula espinhal e destruição do encéfalo, bem como cães preparados de forma a isolar momentaneamente parte do sistema venoso do sistema arterial), observaram que a vasopressina, mesmo em doses menores que as liberadas endogenamente, era capaz de potenciar as respostas da noradrenalina. De acordo com os modelos utilizados, puderam afirmar que a potenciação era decorrente de uma ação periférica e não central. A potenciação da ação pressora da noradrenalina (substância desprovida de ação vasodilatadora) nesse estudo ia de encontro à hipótese de NASH et al (1961) de que a vasopressina agiria bloqueando seletivamente receptores vasodilatadores periféricos.

Com a síntese de derivados da vasopressina com ação mais seletiva (maior ação vasoconstritora em detrimento das ações anti-diurética e ocitócica), esses também começaram a ser estudados em associação com as aminas simpatomiméticas.

Como todas as substâncias apresentam um certo grau de toxicidade, o objetivo dessas associações era, utilizando os dois componentes (uma amina simpatomimética e um derivado da

vasopressina) em doses menores que as normalmente utilizadas nas soluções anestésicas de uso clínico, obter uma boa eficiência vasoconstritora, bem como uma diminuição dos efeitos tóxicos.

Assim, em 1965, ALTURA et al observaram que a injeção intravascular de felipressina (0,01 - 0,1 UI / 2ml de salina) potenciava as respostas constritoras da adrenalina (0,05 µg) e da noradrenalina (0,10 µg) aplicadas topicamente nos vasos do mesoapêndice de ratos.

WATERSON & HUME (1973) constataram que a ação vasoconstritora da noradrenalina aplicada na superfície externa (extraluminalmente) de artéria isolada da orelha de coelho também era potenciada pela ornitina em concentrações subconstritoras.

Da mesma forma, também a adrenalina (WATERSON, 1974) tinha sua ação vasoconstritora potenciada quando associada à ornitina. Nesse experimento foi observado um efeito mais marcado (maior vasoconstrição) ao se usar a orelha isolada de coelho como modelo experimental do que com o uso da artéria central isolada da orelha de coelho. Esse achado levou à conclusão de que a ação da ornitina era maior no leito vascular não arterial.

Os mesmos modelos experimentais (orelha isolada de coelho e artéria isolada de orelha de coelho, esta última podendo ser perfundida pelas soluções-teste de forma seletiva tanto intra quanto extraluminalmente) foram aplicados ao estudo da ação da ornitina sobre a resposta vasoconstritora da adrenalina e da noradrenalina (WATERSON, 1975). Nesse estudo, além das conclusões do trabalho anterior (maior potenciação com uso de orelha isolada), observou-se ainda que a ação da ornitina em potenciar a resposta vasoconstritora neste modelo era maior com a adrenalina (aumento de 4,22 vezes  $\pm$  0,99) do que com a noradrenalina (aumento de 1,81 vezes  $\pm$  0,05).

FROST et al (1976) estudaram as ações da felipressina em segmentos da cauda de ratos com canulação da artéria central, sendo as soluções teste aplicadas por infusão e intraluminalmente. Observaram que doses repetidas de felipressina levavam à taquifilaxia; o pré-tratamento com reserpina diminuía a resposta inicial à felipressina, mas não alterava significativamente o desenvolvimento da taquifilaxia. As respostas à administração em dose única de adrenalina, noradrenalina e serotonina eram potenciadas pela felipressina. Também foi observado

aumento da resposta ao estímulo elétrico com doses subconstritoras de felipressina. Esses achados levaram os autores a sugerirem que a ação da felipressina poderia, em parte, estar relacionada com a liberação neuronal de noradrenalina.

GERKE et al (1977a), usando artéria isolada da orelha de coelho também estudaram a potenciação da ação constritora da adrenalina e noradrenalina pela felipressina. Observaram que esta última, quando aplicada extraluminalmente, potenciava as ações da adrenalina e da noradrenalina quando as mesmas eram aplicadas intra ou extraluminalmente e que uma vez tendo a felipressina atingido uma concentração ótima (0,001 UI/ml) em contato com a artéria, o aumento da concentração não levava a um aumento significante da potenciação. Além disso, o tratamento prévio da artéria com acetato de deoxicorticosterona (inibidor da recaptção tecidual de noradrenalina), nialamida (bloqueador da enzima monoamino oxidase) ou a desnervação cirúrgica (gangliotomia simpática cervical superior) não alterava a potenciação da ação da adrenalina e da noradrenalina pela felipressina, indicando que a ação desta não ocorre através da enzima monoamino oxidase e nem da recaptção neuronal ou extra-neuronal.

Nesse trabalho também ficou demonstrado que a ação potenciadora (sinergismo) da felipressina sobre a vasoconstrição promovida pela adrenalina e noradrenalina é específica. Este fato foi observado através da administração intra e extraluminal de cloreto de potássio (agindo como estimulante específico da musculatura lisa), que não teve sua ação potenciada quando da adição de felipressina à porção externa da artéria.

Baseado em trabalhos anteriores já citados (DEASY & DISTEFANO, 1972; GERKE et al, 1976a e 1976b e GERKE et al, 1977a e 1977b) demonstrando que a lidocaína e a prilocaína potenciam a ação vasoconstritora da adrenalina (devido ao bloqueio de sua recaptção) e que a felipressina também promove uma potenciação dessa ação (por mecanismo diverso), GERKE et al (1978), usando como modelo experimental a artéria isolada de orelha de coelho fizeram uma série de experimentos usando adrenalina e felipressina, em doses menores que as usadas nas soluções anestésicas locais, associadas à lidocaína a 2% e à prilocaína a 3%. Observaram que quando a adrenalina a 1: 80.000 era associada à felipressina a 0,01 ou 0,001 UI/ml (tanto com lidocaína a 2%,

quanto com prilocaína a 3%) havia uma potenciação significativa da ação vasoconstritora. Por outro lado, quando a adrenalina era usada na concentração de 1: 300.000 em associação com a felipressina, a potenciação só foi significativa com a lidocaína a 2% e não com a prilocaína a 3%, levando os autores a concluírem que a maior concentração de prilocaína poderia interferir na constrição da artéria.

Em uma segunda série de experimentos, utilizando soluções convencionais (lidocaína a 2% com adrenalina 1: 80.000 e prilocaína a 3% com adrenalina 1: 300.000), foi observado que apenas na concentração de 0,001 UI/ml a felipressina levou a um aumento significativo da resposta constritora. Esses resultados levaram os autores a sugerirem o uso dessas associações de vasoconstritores em doses subconstritoras na tentativa de diminuir os efeitos tóxicos dos mesmos.

ALMASI & FREWIN (1980) estudaram a retenção da lidocaína a 2% e da prilocaína a 3%, marcadas com trítio ( $H^3$ ), na presença de vários vasoconstritores após a injeção dessas substâncias na língua de ratos. Observaram que para a prilocaína, apenas a adição de adrenalina 1: 80.000 resultou em maior retenção, havendo diferença significativa em relação ao controle (prilocaína sem vasoconstritor) no tempo de 32 minutos após a injeção. A adição de adrenalina a 1: 100.000 não resultou em diferença significativa em relação ao controle. Para a lidocaína, tanto a adição de adrenalina a 1: 100.000 quanto 1: 80.000 resultou em retenção significativamente maior da solução no local de injeção, sendo que no tempo de 16 minutos após a injeção, a solução com adrenalina 1: 100.000 levou a uma retenção significativamente maior da lidocaína do que a solução com adrenalina 1: 80.000.

Na segunda parte do estudo, os autores compararam os anestésicos locais (lidocaína e prilocaína) com adrenalina 1: 100.000, com felipressina a 0,00015 UI/ml e com uma associação desses dois vasoconstritores, além da solução controle (anestésico local sem vasoconstritor). Para a prilocaína observaram que a associação de dois vasoconstritores levava a uma retenção significativamente maior do anestésico local no tempo de 32 minutos, quando comparada à solução contendo só felipressina ou com o controle. Quando comparada com a solução contendo adrenalina como vasoconstritor, a retenção de prilocaína só foi significativamente maior aos 16 minutos após a

injeção. Em relação à lidocaína, a associação dos dois vasoconstritores só proporcionou um aumento significativo na retenção do anestésico local, quando comparado ao controle no tempo de 32 minutos.

Por outro lado, BASTOS (1985) observou um efeito potenciador da felipressina sobre a adrenalina ao avaliar o tempo de anestesia da prilocaína a 3% em dorso de cobaia (*Cavia porcellus*). Quando associada a várias combinações desses dois vasoconstritores, a duração da anestesia era maior.

Da mesma forma, em um estudo clínico comparando duas soluções anestésicas - bupivacaína a 0,5% com adrenalina 1: 200.000 e bupivacaína 0,25% com adrenalina 1: 200.000 e felipressina a 0,03 UI/ml - RANALI (1990) observou eficiência semelhante das duas soluções quanto à latência, duração da anestesia e analgesia pós-operatória.

Especificamente com relação à toxicidade da associação de vasoconstritores, RANALI et al (1992), associando a adrenalina a 1: 100.000 e felipressina a 0,03 UI/ml com a bupivacaína a 0,25% não observaram diferença significativa na pressão arterial de cães tanto em administração intra-bucal, quanto intravenosa, quando comparada com a solução contendo apenas um vasoconstritor (adrenalina 1: 200.000 e bupivacaína a 0,5%). Foi observado, entretanto, um aumento estatisticamente significativo na pressão sistólica em relação aos valores de repouso, um minuto após a aplicação intravenosa para ambas as soluções.

## 5. PROPOSIÇÃO

Com base nos vários trabalhos demonstrando a existência de potenciação da ação constritora da adrenalina, quando associada à felipressina, e dada a escassez de estudos de toxicidade dessa associação, propôs-se neste trabalho avaliar a toxicidade (estudo de  $DL_{50}$  e  $DC_{50}$ , respectivamente, dose letal e dose convulsiva em 50% da população) da solução de um anestésico local (lidocaína ou prilocaína) quando administrada juntamente com essa associação, comparando-a com as soluções disponíveis no mercado farmacêutico (sem vasoconstritor e com um vasoconstritor).

## 6. MATERIAL E MÉTODOS

A toxicidade aguda foi estudada através da determinação do valor da dose letal em 50% da população ( $DL_{50}$ ) e da dose convulsiva em 50% da população ( $DC_{50}$ ). Além disso, foram ainda avaliados os períodos de latência para a perda de reflexo de orientação (PRO) e para convulsão, bem como a duração da convulsão.

Para tanto foram usadas as seguintes soluções:

1. Grupo  $PF_1A_1$  - Prilocaina a 3% + Felipressina 0,01 UI/ml + Adrenalina 1: 100.000
2. Grupo  $PF_1A_2$  - Prilocaina a 3% + Felipressina 0,01 UI/ml + Adrenalina 1: 200.000
3. Grupo  $PF_1A_3$  - Prilocaina a 3% + Felipressina 0,01 UI/ml + Adrenalina 1: 300.000
4. Grupo  $LF_1A_1$  - Lidocaína a 2% + Felipressina 0,01 UI/ml + Adrenalina 1: 100.000
5. Grupo  $LF_1A_2$  - Lidocaína a 2% + Felipressina 0,01 UI/ml + Adrenalina 1: 200.000
6. Grupo  $LF_1A_3$  - Lidocaína a 2% + Felipressina 0,01 UI/ml + Adrenalina 1: 300.000
7. Grupo  $PA_2$  - Prilocaina a 3% + Adrenalina 1: 200.000
8. Grupo  $LA_1$  - Lidocaína a 2% + Adrenalina 1: 100.000
9. Grupo  $PF_3$  - Prilocaina a 3% + Felipressina 0,03 UI/ml
10. Grupo  $LF_3$  - Lidocaína a 2% + Felipressina 0,03 UI/ml
11. Grupo L - Lidocaína a 2%
12. Grupo P - Prilocaina a 3%
13. Grupo Água Destilada
14. Grupo  $F_1A_1$  - Felipressina 0,01 UI/ml + Adrenalina 1: 100.000
15. Grupo  $F_1A_2$  - Felipressina 0,01 UI/ml + Adrenalina 1: 200.000
16. Grupo  $F_1A_3$  - Felipressina 0,01 UI/ml + Adrenalina 1: 300.000
17. Grupo  $F_3$  - Felipressina 0,03 UI/ml
18. Grupo  $A_2$  - Adrenalina 1: 200.000
19. Grupo  $A_1$  - Adrenalina 1: 100.000
20. Grupo G - Solução de Felipressina 25 UI/ml
21. Grupo H - Solução de Adrenalina 2 mg/ml

\* As soluções 1 a 12 e 14 a 20 foram cedidas pelo Laboratório Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda

\* As soluções 13 e 21 foram preparadas antes do experimento com água recém-destillada e adrenalina P.A. (Epinephrine P.A. Sigma E 4375 lote 83HO695).

O pH das soluções variou entre 3,9 e 5,0.



### 6.1. Estudo da Dose letal ( $DL_{50}$ ) e da Dose Convulsiva ( $DC_{50}$ )

Foram utilizados 2170 camundongos (espécie *Mus musculus*) machos (1090 para o estudo de dose letal e 1080 para estudo da dose convulsiva), linhagem Swiss spf., provenientes do Centro Multi-Institucional de Bioterismo da UNICAMP (CEMIB), pesando entre 17 e 22g, os quais foram alimentados com ração Labina - Purina e água à vontade.

Os animais foram divididos aleatoriamente em grupos de 10 por gaiola para cada dose. A seguir cada animal foi pesado (balança digital eletrônica Tecnal - modelo TEP1000), sendo considerada uma casa após a vírgula. Após a pesagem, era feito o cálculo da dose em função do peso do animal, sendo consideradas duas casas decimais.

As injeções foram feitas no dorso dos animais, via subcutânea com uso de seringas centesimais e agulhas 13 x 4,5 (ambas marca BD). O horário de injeção foi entre 8 e 12 horas, pois segundo MOORE (1977) a incidência de convulsões induzidas pela lidocaína é maior às 21 horas e reduzida por um fator de seis ao redor das 15 horas, havendo um platô de estabilidade entre as 8 e as 12 horas (JONG & BONIN, 1980).

Para as soluções 1 a 12 (tanto para dose convulsiva quanto para dose letal) e 20 e 21 (para dose letal) foram feitas várias doses (anexos 1, 2, 3, 4 e 5), sendo que nas soluções 1 a 12 a dose se referia ao sal anestésico, enquanto nas soluções 20 e 21 estava relacionada ao vasoconstritor.

As soluções 13 a 19 foram utilizadas apenas no volume equivalente ao da maior dose injetada nos respectivos grupos 1 a 12, apenas para observação de uma possível reação tóxica dos vasoconstritores ou do veículo no volume utilizado (soluções controle).

No estudo de dose letal, os animais foram observados durante 48 horas e no estudo de dose convulsiva, por 01 hora nos animais que não apresentaram alteração ou até o completo retorno do animal às condições pré-tratamento.

## **6.2. Determinação dos Períodos de Latência para Perda do Reflexo de Orientação (PRO), Convulsão e Duração da Convulsão.**

Baseado nos resultados obtidos nos estudos de  $DC_{50}$  e  $DL_{50}$  para as soluções 11 (lidocaína a 2% - L) e 12 (prilocaína a 3% - P), ou seja, soluções que continham apenas o sal anestésico, sem a presença de vasoconstritor, foram escolhidas duas doses (uma para cada agente anestésico) nas quais a maioria dos animais entrasse em convulsão, mas não houvesse ocorrência de morte.

Assim foi escolhida a dose de 100 mg/kg (em relação ao sal anestésico) para a solução 11 (e para todas as que continham lidocaína como sal anestésico) e 250 mg/kg para a solução 12 e demais que eram compostas por prilocaína.

Foram então distribuídos 120 camundongos aleatoriamente em grupos de 10 animais para cada solução (1 a 12), os quais receberam, via subcutânea, no dorso, a dose estipulada.

Os animais foram observados por 1 hora ou até retornarem completamente ao normal (movimentação e resposta a estímulo semelhante ao período pré-tratamento).

Os parâmetros adotados para a perda de reflexo de orientação foram os seguintes: deambulação anormal (movimentação exagerada da cabeça do animal para ambos os lados, ou ainda movimentação para um único lado ou em círculos) ou incapacidade de manter-se em pé.

A ocorrência de convulsão foi considerada quando toda a musculatura se apresentava contraída, estando o animal com o corpo arqueado e a cabeça distendida para trás (convulsão tônica).

O período de latência para a PRO foi contado a partir da administração da solução ao animal até o aparecimento dos sinais que indicavam a perda do referido reflexo.

O tempo de latência da convulsão foi considerado desde a injeção até o começo dos episódios convulsivos, sendo a duração da convulsão contada do início até a cessação das contrações.

### 6.3. Análise Estatística

A análise estatística foi dividida em duas partes: a) ensaio do tipo dose-resposta para os estudos de  $DL_{50}$  e  $DC_{50}$  e b) análise de dados censurados (ou análise de dados de sobrevivência) para o estudo das latências da PRO e da convulsão e duração da convulsão.

#### 6.3.1. Análise Estatística da DL e DC (Ensaio do Tipo Dose-Resposta)

Ensaio do tipo dose-resposta são aqueles em que uma determinada droga é administrada em  $k$  diferentes doses,  $d_1, d_2, \dots, d_k$ , a, respectivamente,  $m_1, m_2, \dots, m_k$  indivíduos, obtendo-se como resposta, após um período especificado,  $r_1, r_2, \dots, r_k$  indivíduos que mudam de estado (morte, convulsão, cura etc.). Dados resultantes desse tipo de ensaio podem ser considerados como provenientes de uma distribuição binomial com média  $\mu_p$ , que é a probabilidade de ocorrência do evento sob estudo. Em geral, nos gráficos das proporções  $r_i/m_i$  versus doses (ou logaritmo das doses), o aspecto das curvas é sigmóide e dá uma idéia para a escolha do modelo para  $\mu_i$ . Uma transformação adequada lineariza esse modelo a fim de que procedimentos iterativos comuns de regressão possam ser utilizados. Os modelos mais comumente usados para esse fim são: logístico, "probit" e complemento log-log, e são casos especiais de uma classe mais geral chamada modelos lineares generalizados (McCULLAGH & NELDER, 1989). O ajuste de um ou outro depende do conjunto de dados e pode ser feito através do pacote estatístico GLIM (PAYNE, 1986), usado no presente trabalho.

A verificação do ajuste do modelo é feita através da comparação da "deviance" residual com o valor da tabela de  $\chi^2_{v,\alpha}$ , onde  $V$  é o número de graus de liberdade do resíduo associado e  $\alpha$  é nível de significância. Se a "deviance" residual for menor do que  $\chi^2_{v,\alpha}$  tem-se que existem evidências de que o modelo se ajusta bem aos dados a um nível  $\alpha$  de significância. De forma semelhante, verifica-se a significância da regressão, comparando-se a "deviance" de regressão com o valor da tabela de  $\chi^2_{1,\alpha}$ .

No presente estudo, o modelo que melhor se ajustou foi o logístico, usando-se  $\ln(\text{dose})$ . Uma vez ajustado o modelo logístico aos dados, a proporção esperada de sucessos foi então calculada através da expressão:

$$\hat{\mu} = \frac{e^{\hat{\alpha} + \hat{\beta} \ln(\text{dose})}}{1 + e^{\hat{\alpha} + \hat{\beta} \ln(\text{dose})}}$$

onde  $\hat{\alpha}$  e  $\hat{\beta}$  são as estimativas dos parâmetros do modelo de regressão.

A estimativa de uma dose efetiva (DL, DC etc.) qualquer, quando se usa o  $\ln(\text{dose})$ , é obtida através da expressão:

$$DE_{p\%} = \exp\left(\frac{\ln\left(\frac{p}{1-p}\right) - \hat{\alpha}}{\hat{\beta}}\right) \Rightarrow DE_{50} = \exp\left(-\frac{\hat{\alpha}}{\hat{\beta}}\right)$$

com erro padrão (ep) dado por  $ep(DE_p) = DE_p \sqrt{\frac{1}{\hat{\beta}^2} (V_{11} + 2DE_p V_{12} + DE_p^2 V_{22})}$

onde  $V_{11} = \text{Vâr}(\hat{\alpha})$ ,  $V_{12} = \text{Côv}(\hat{\alpha}, \hat{\beta})$  e  $V_{22} = \text{V}(\hat{\beta})$ .

Nos grupos em que havia repetição de resposta 0 (zero) foi considerada apenas a maior dose que tinha esse valor como resposta para não haver interferência no cálculo da  $DL_{50}$  e  $DC_{50}$ .

Dado que inexistia uma forma estabelecida de comparação de estudos do tipo dose-resposta entre grupos (ex.  $DL_{50}$  ou  $DC_{50}$  de vários grupos), um meio de se fazer tal comparação é através do intervalo de confiança.

Dentre os métodos usados para a construção de intervalos de confiança para doses efetivas, os mais comuns são o método Delta e o de Fieller (COLLETT, 1991; MORGAN, 1992). Como neste trabalho o método de Fieller foi o mais rigoroso, as comparações entre os grupos foram feitas tomando por base os intervalos de confiança obtidos por este método.

Dessa forma, foram considerados estatisticamente diferentes os grupos que apresentavam intervalos de confiança que não se sobrepunham (ou seja, sem pontos em comum).

### 6.3.2. Análises de Dados Censurados

Pelo fato de nem todos os camundongos apresentarem PRO ou convulsão, na segunda parte do estudo, utilizou-se para analisar esses dados a análise de dados censurados, também chamada de análise de dados de sobrevivência.

As censuras são, neste caso, os dados referentes aos camundongos que não apresentaram PRO ou convulsão.

A análise de sobrevivência consiste em um conjunto de técnicas aplicadas a dados censurados. Neste estudo, primeiramente foi aplicada uma técnica não paramétrica, o estimador produto limite de Kaplan-Meier (LAWLEES, 1982). Com esta técnica obteve-se para cada variável resposta (latência PRO, latência da convulsão e duração da convulsão) as correspondentes curvas de probabilidade de latência em função do tempo e para duração (sendo que a probabilidade de latência é a probabilidade do indivíduo estar no estado latente, ou seja, de não ter PRO ou convulsão).

Em seguida os tratamentos (grupos) foram comparados quanto a estas variáveis-respostas através do teste de Log-Rank (LAWLEES, 1982).

A verificação da diferença / semelhança entre os grupos para cada agente anestésico utilizado foi baseada na análise das curvas de probabilidade de latência (para PRO e convulsão) e duração da convulsão, em função do tempo.

## 7. RESULTADOS

Os resultados obtidos pelos grupos experimentais encontram-se resumidos nos Anexos 1 e 2 (páginas 54 e 55 - estudo da dose letal para o grupo contendo lidocaína e prilocaína, respectivamente), 3 (página 56 - estudo da dose letal para a adrenalina e felipressina), 4 e 5 (páginas 57 e 58 - estudo da dose convulsiva para os grupos contendo lidocaína e prilocaína, respectivamente) e 6 e 7 (páginas 59 e 60 - tempo de latência da PRO e convulsão e duração da convulsão para os grupos contendo lidocaína e prilocaína, respectivamente).

### 7.1. Dose Letal

O ajuste do modelo logístico para a  $DL_{50}$  dos grupos contendo lidocaína e prilocaína é mostrado nas tabelas 1 e 3, respectivamente.

As estimativas de  $DL_{50}$  (em mg/kg), bem como o erro padrão, os intervalos de confiança com coeficiente de confiança de 95% de probabilidade e as equações das retas para cada um dos grupos estão apresentados nas tabelas 2 e 4 para as soluções contendo como sal anestésico a lidocaína e a prilocaína, respectivamente.

Para melhor visualização e comparação entre os grupos, os intervalos de confiança obtidos pelos métodos Delta e Fieller são mostrados nos gráficos 1 e 2 (para os grupos contendo lidocaína) e 3 e 4 (grupos contendo prilocaína).

Os quadros 1 e 2, 3 e 4 mostram as diferenças / semelhanças estatísticas entre os vários grupos a partir da comparação dos intervalos de confiança obtidos pelos dois métodos citados acima.

**Tabela 1.** Ajuste do modelo logístico de  $DL_{50}$  para os grupos que continham lidocaína como anestésico local (G.L. = graus de liberdade; Dev. = "deviance"; Reg. = regressão; Res. = resíduo).

	LF <sub>1</sub> A <sub>1</sub>		LF <sub>1</sub> A <sub>2</sub>		LF <sub>1</sub> A <sub>3</sub>		LA <sub>1</sub>		LF <sub>3</sub>		L	
	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.
Reg.	1	52,7	1	29,5	1	12,1	1	19,4	1	51,0	1	32,6
Res.	7	4,1	5	7,2	5	4,5	4	5,9	7	11,0	5	4,4
Total	8	56,8	6	36,7	6	16,6	5	25,3	8	62,0	6	37,0

$$\chi^2_{1;0,05} = 3,84$$

$$\chi^2_{4;0,05} = 9,49$$

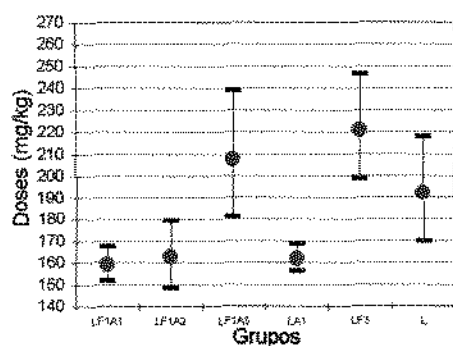
$$\chi^2_{3;0,05} = 11,1$$

$$\chi^2_{7;0,05} = 14,1$$

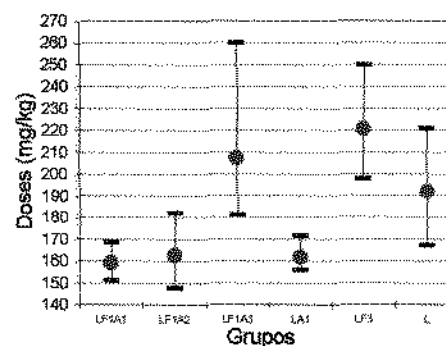
**Tabela 2.** Estimativas das Doses Letais 50% ( $DL_{50}$ ), expressas em mg/kg de peso corporal, via subcutânea, erro padrão (ep), equações das retas e intervalo de confiança (95%) dos grupos experimentais que apresentavam a lidocaina como agente anestésico.

Grupo	Equações	$DL_{50}$ (ep) em mg/kg	Intervalos de Confiança - mg/kg	
			Delta	Fieller
$LF_1A_1$	$-60,06 + 11,85 \ln(d)$	159,3 ( 4,0)	(151,6; 167,3)	(151,2; 168,3)
$LF_1A_2$	$-32,30 + 6,34 \ln(d)$	163,1 ( 7,8)	(148,5; 179,1)	(147,4; 181,8)
$LF_1A_3$	$-20,77 + 3,89 \ln(d)$	207,9 (14,7)	(181,0; 239,0)	(180,8; 259,7)
$LA_1$	$-81,95 + 16,10 \ln(d)$	162,2 ( 3,1)	(156,2; 168,5)	(155,8; 171,5)
$LF_3$	$-29,35 + 5,44 \ln(d)$	221,1 (12,1)	(198,7; 246,2)	(197,8; 249,8)
L	$-25,73 + 4,89 \ln(d)$	192,2 (12,2)	(169,7; 217,7)	(166,9; 220,8)

**Gráfico 1.** Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método DELTA para  $DL_{50}$  dos grupos contendo lidocaina como anestésico.



**Gráfico 2.** Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método FIELLER para  $DL_{50}$  dos grupos contendo lidocaina como anestésico.



**Quadro 1.** Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método DELTA para  $DL_{50}$  dos grupos contendo lidocaina.

GRUPO	
$LF_3$	a
$LF_1A_3$	a
L	ab
$LF_1A_2$	bc
$LA_1$	c
$LF_1A_1$	c

**Quadro 2.** Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método FIELLER para  $DL_{50}$  dos grupos contendo lidocaina.

GRUPO	
$LF_3$	a
$LF_1A_3$	ab
L	abc
$LF_1A_2$	bc
$LA_1$	c
$LF_1A_1$	c

\* letras diferentes indicam diferença estatística

**Tabela 3.** Ajuste do modelo logístico para a  $DL_{50}$  dos grupos que continham prilocaina como anestésico local (GL = graus de liberdade; Dev. = "deviance"; Reg. = regressão; Res. = residuo).

	PF <sub>1</sub> A <sub>1</sub>		PF <sub>1</sub> A <sub>2</sub>		PF <sub>1</sub> A <sub>3</sub>		PA <sub>2</sub>		PF <sub>3</sub>		P	
	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.
Reg.	1	22,7	1	39,6	1	50,1	1	11,6	1	28,7	1	36,6
Res.	4	8,6	7	15,7	7	12,3	4	1,5	4	6,7	7	2,3
Total	5	31,3	8	55,3	8	62,4	5	13,1	5	35,4	8	38,9

$$\chi^2_{1;0,05} = 3,84$$

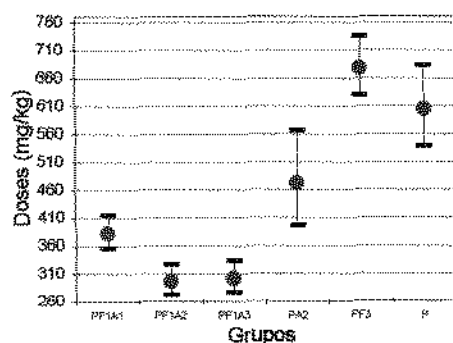
$$\chi^2_{4;0,05} = 9,49$$

$$\chi^2_{7;0,05} = 14,1$$

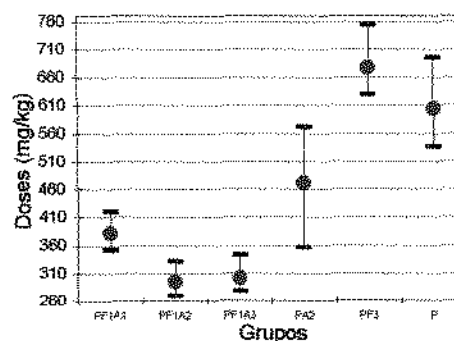
**Tabela 4.** Estimativas das Doses Letais 50% ( $DL_{50}$ ), expressas em mg/kg de peso corporal, via subcutânea, erro padrão (ep), equações das retas e intervalo de confiança (95%) dos grupos experimentais que apresentavam a prilocaina como agente anestésico.

Grupo	Equações	$DL_{50}$ (ep) em mg/kg	Intervalos de Confiança - mg/kg	
			Delta	Fieller
PF <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	- 48,04 + 8,08 ln(d)	383,3 (15,1)	(354,8; 414,2)	(352,0; 420,4)
PF <sub>1</sub> A <sub>2</sub>	- 33,66 + 5,91 ln(d)	297,4 (13,9)	(271,5; 325,9)	(268,8; 331,7)
PF <sub>1</sub> A <sub>3</sub>	- 36,38 + 6,36 ln(d)	303,3 (14,6)	(276,0; 333,4)	(277,4; 342,5)
PA <sub>2</sub>	- 20,01 + 3,25 ln(d)	473,1 (43,2)	(395,5; 565,8)	(356,2; 571,3)
PF <sub>3</sub>	- 64,75 + 9,93 ln(d)	678,8 (26,7)	(628,4; 733,3)	(628,8; 753,3)
P	- 28,79 + 4,49 ln(d)	605,6 (36,7)	(537,8; 681,9)	(535,9; 695,4)

**Gráfico 3.** Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método DELTA para  $DL_{50}$  dos grupos contendo prilocaina como anestésico.



**Gráfico 4.** Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método FIELLER para  $DL_{50}$  dos grupos contendo prilocaina como anestésico.





**Quadro 3.** Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método DELTA para  $DL_{50}$  dos grupos contendo prilocaina.

GRUPO	
PF <sub>3</sub>	a
P	ab
PA <sub>2</sub>	bc
PF <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	c
PF <sub>1</sub> A <sub>3</sub>	d
PF <sub>1</sub> A <sub>2</sub>	d

**Quadro 4.** Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método FIELLER para  $DL_{50}$  dos grupos contendo prilocaina.

GRUPO	
PF <sub>3</sub>	a
P	ab
PA <sub>2</sub>	bc
PF <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	c
PF <sub>1</sub> A <sub>3</sub>	d
PF <sub>1</sub> A <sub>2</sub>	d

\* letras diferentes indicam diferença estatística

O ajuste do modelo logístico para a  $DL_{50}$  da adrenalina é mostrado na tabela 5. A estimativa de  $DL_{50}$  (em mg/kg), o erro padrão, o intervalo de confiança com um coeficiente de confiança de 95% de probabilidade (pelos métodos Delta e Fieller) e a equação da reta para a adrenalina estão expressos na tabela 6.

**Tabela 5.** Ajuste do modelo logístico de  $DL_{50}$  para a solução de adrenalina (GL = graus de liberdade; Dev. = "deviance"; Reg. = regressão; Res. = residuo).

	G.L.	Dev.
Reg.	1	29,6
Res.	6	2,5
Total	7	32,1

$$\chi^2_{1; 0,05} = 3,84$$

$$\chi^2_{6; 0,05} = 12,6$$

**Tabela 6.** Estimativa da Dose Letal 50% ( $DL_{50}$ ), expressa em mg/kg de peso corporal, via subcutânea, erro padrão (ep), equação da reta e intervalo de confiança (95%) da solução de adrenalina a 2 mg/ml (grupo 21).

Grupo	Equação	$DL_{50}$ (ep) em mg/kg	Intervalos de Confiança - mg/kg	
			Delta	Fieller
Adrenalina	- 1,93 + 1,64 ln(d)	3,3 (0,57)	(2,3; 4,6)	(2,1; 4,6)

Para o grupo 20, mesmo a administração de 1000 UI/kg, tanto via subcutânea quanto intraperitoneal não foi suficiente para levar nenhum animal à morte.

Como a solução mais concentrada de felipressina disponível é de 25 UI/ml, não foi possível estabelecer a  $DL_{50}$  para este vasoconstritor.

Não foram observadas alterações de qualquer natureza nos grupos controle (F<sub>1</sub>A<sub>1</sub>, F<sub>1</sub>A<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>A<sub>3</sub>, F<sub>3</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>1</sub> e grupo 13).

## 7.2. Dose Convulsiva

O ajuste do modelo logístico para a  $DC_{50}$  dos grupos contendo lidocaina e prilocaína é mostrado nas tabelas 7 e 9.

As estimativas de  $DC_{50}$  (em mg/kg), bem como o erro padrão, os intervalos de confiança com um coeficiente de confiança de 95% de probabilidade e as equações das retas para cada um dos grupos estão apresentados nas tabelas 8 e 10 para as soluções contendo como sal anestésico a lidocaina e a prilocaína, respectivamente.

Para melhor visualização e comparação entre os grupos, os intervalos de confiança obtidos pelos métodos Delta e Fieller são mostrados nos gráficos 5 e 6 (para grupos contendo lidocaina) e 7 e 8 (grupos contendo prilocaína).

Os quadros 5 e 6, 7 e 8 mostram as diferenças/semelhanças estatísticas entre os vários grupos a partir da comparação dos intervalos de confiança obtidos pelos dois métodos citados acima.

**Tabela 7.** Ajuste do modelo logístico de  $DC_{50}$  para os grupos que continham lidocaina como anestésico local (GL = graus de liberdade; Dev. = "deviance"; Reg. = regressão; Res. = resíduo).

	LF <sub>1</sub> A <sub>1</sub>		LF <sub>1</sub> A <sub>2</sub>		LF <sub>1</sub> A <sub>3</sub>		LA <sub>1</sub>		LF <sub>3</sub>		L	
	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.
Reg.	1	24,5	1	30,8	1	30,2	1	38,4	1	41,3	1	31,8
Res.	6	3,4	5	6,1	6	6,3	6	10,4	6	4,0	6	3,3
Total	7	27,9	6	36,9	7	36,6	7	48,8	7	45,3	7	35,1

$$\chi^2_{1;0,05} = 3,84$$

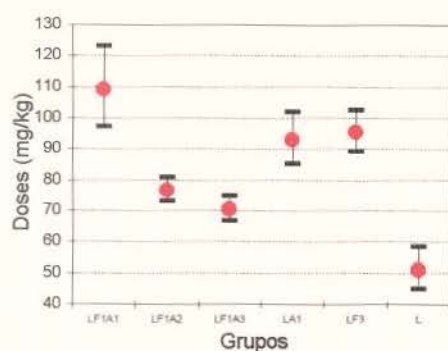
$$\chi^2_{5;0,05} = 11,1$$

$$\chi^2_{6;0,05} = 12,6$$

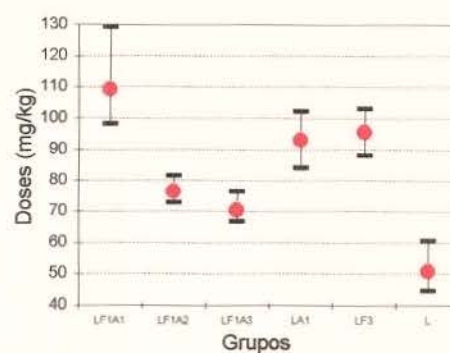
**Tabela 8.** Estimativas das Doses Convulsivas 50% ( $DC_{50}$ ), expressas em mg/kg de peso corporal, via subcutânea, erro padrão (ep), equações das retas e intervalo de confiança (95%) dos grupos experimentais que apresentavam a lidocaina como agente anestésico.

Grupo	Equações	$DC_{50}$ (ep) em mg/kg	Intervalos de Confiança - mg/kg	
			Delta	Fieller
LF <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	- 23,55 + 5,05 ln(d)	109,4 (6,6)	(97,2; 123,1)	(98,1; 129,2)
LF <sub>1</sub> A <sub>2</sub>	- 51,21 + 11,80 ln(d)	76,8 (2,0)	(73,0; 80,7)	(72,7; 81,6)
LF <sub>1</sub> A <sub>3</sub>	- 40,56 + 9,52 ln(d)	70,6 (2,0)	(66,6; 74,7)	(66,6; 76,3)
LA <sub>1</sub>	- 29,81 + 6,57 ln(d)	93,2 (4,2)	(85,2; 101,9)	(84,1; 102,2)
LF <sub>3</sub>	- 38,44 + 8,43 ln(d)	95,7 (3,4)	(89,2; 102,6)	(88,0; 102,9)
L	- 16,63 + 4,22 ln(d)	51,2 (3,4)	(44,9; 58,3)	(44,6; 60,5)

**Gráfico 5.** Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método DELTA para  $DC_{50}$  dos grupos contendo lidocaina como anestésico.



**Gráfico 6.** Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método FIELLER para  $DC_{50}$  dos grupos contendo lidocaina como anestésico.



**Quadro 5.** Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método DELTA para  $DC_{50}$  dos grupos contendo lidocaina.

GRUPO	
LF <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a
LF <sub>3</sub>	a
LA <sub>1</sub>	a
LF <sub>1</sub> A <sub>2</sub>	b
LF <sub>1</sub> A <sub>3</sub>	b
L	c

**Quadro 6.** Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método FIELLER para  $DC_{50}$  dos grupos contendo lidocaina.

GRUPO	
LF <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a
LF <sub>3</sub>	a
LA <sub>1</sub>	a
LF <sub>1</sub> A <sub>2</sub>	b
LF <sub>1</sub> A <sub>3</sub>	b
L	c

\* letras diferentes indicam diferença estatística

**Tabela 9.** Ajuste do modelo logístico de  $DC_{50}$  para os grupos que continham prilocaina como anestésico local (GL = graus de liberdade; Dev. = "deviance"; Reg. = regressão; Res. = residuo).

	PF <sub>1</sub> A <sub>1</sub>		PF <sub>1</sub> A <sub>2</sub>		PF <sub>1</sub> A <sub>3</sub>		PA <sub>2</sub>		PF <sub>3</sub>		P	
	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.
Reg.	1	32,5	1	41,0	1	31,5	1	17,4	1	32,4	1	34,5
Res.	9	10,1	8	5,8	8	3,1	5	9,7	6	2,4	5	5,9
Total	10	42,6	9	46,8	9	34,6	6	27,1	7	34,8	6	40,4

$$\chi^2_{1;0,05} = 3,84$$

$$\chi^2_{5;0,05} = 11,1$$

$$\chi^2_{6;0,05} = 12,6$$

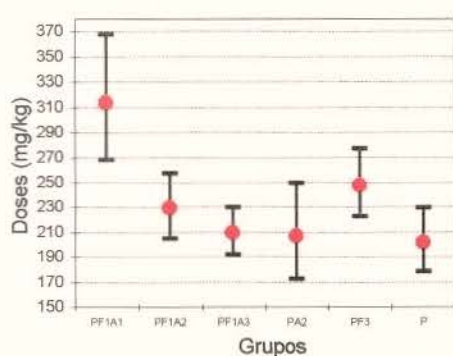
$$\chi^2_{8;0,05} = 15,5$$

$$\chi^2_{9;0,05} = 16,9$$

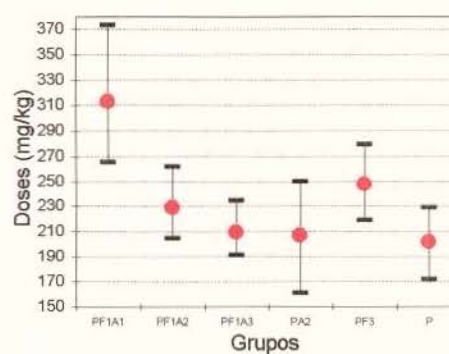
**Tabela 10.** Estimativas das Doses Convulsivas 50% ( $DC_{50}$ ), expressas em mg/kg de peso corporal, via subcutânea, erro padrão (ep), equações das retas e intervalo de confiança (95%) dos grupos experimentais que apresentavam a prilocaina como agente anestésico.

Grupo	Equações	$DC_{50}$ (ep) em mg/kg	Intervalos de Confiança - mg/kg	
			Delta	Fieller
PF <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	- 16,03 + 2,79 ln(d)	314,0 (25,2)	(268,2; 367,5)	(265,2; 373,1)
PF <sub>1</sub> A <sub>2</sub>	- 23,82 + 4,38 ln(d)	229,4 (13,3)	(204,7; 257,0)	(204,3; 261,8)
PF <sub>1</sub> A <sub>3</sub>	- 27,60 + 9,73 ln(d)	209,7 (9,7)	(191,4; 229,6)	(190,8; 234,0)
PA <sub>2</sub>	- 16,17 + 3,03 ln(d)	207,4 (19,6)	(172,3; 249,5)	(161,0; 249,9)
PF <sub>3</sub>	- 27,42 + 4,97 ln(d)	248,0 (14,0)	(222,1; 277,0)	(218,5; 279,0)
P	- 27,25 + 5,13 ln(d)	202,2 (12,9)	(178,3; 229,1)	(171,5; 228,7)

**Gráfico 7.** Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método DELTA para  $DC_{50}$  dos grupos contendo prilocaina como anestésico.



**Gráfico 8.** Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método FIELLER para  $DC_{50}$  dos grupos contendo prilocaina como anestésico.



**Quadro 7.** Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método DELTA para  $DC_{50}$  dos grupos contendo prilocaina.

GRUPO	
PF <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a
PF <sub>3</sub>	ab
PF <sub>1</sub> A <sub>2</sub>	b
PF <sub>1</sub> A <sub>3</sub>	b
PA <sub>2</sub>	b
P	b

**Quadro 8.** Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método FIELLER para  $DC_{50}$  dos grupos contendo prilocaina.

GRUPO	
PF <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a
PF <sub>3</sub>	ab
PF <sub>1</sub> A <sub>2</sub>	b
PF <sub>1</sub> A <sub>3</sub>	b
PA <sub>2</sub>	b
P	b

\* letras diferentes indicam diferença estatística

### 7.3. Estudo da Latência da Perda de Reflexo de Orientação, Latência da Convulsão e Duração da Convulsão.

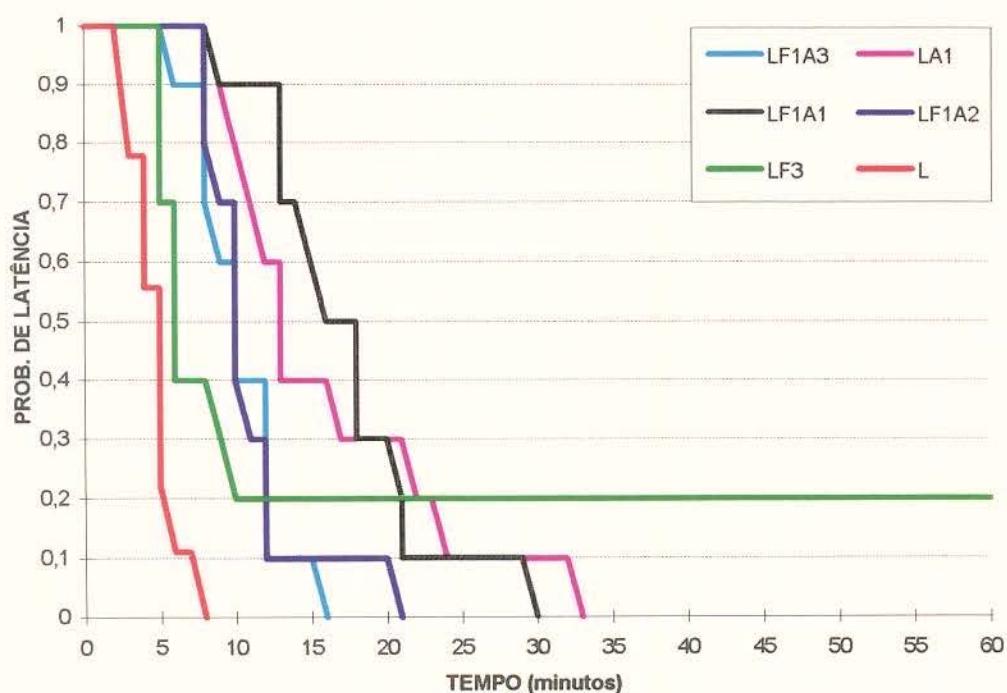
#### a) Grupos contendo Lidocaína

- Latência da PRO (gráfico 9)

Teste	estatística $\chi^2$	pr > $\chi^2$
Log-Rank	54,74	0,0001

Houve diferença significativa entre os grupos. Pela análise do gráfico 9, observou-se que no grupo L o período de latência da PRO foi menor que nos demais. O grupo LF<sub>3</sub> teve um comportamento semelhante ao grupo L até o tempo de 10 minutos. A partir desse tempo ainda havia uma probabilidade de 20% de um animal estar no estado latente (ou seja, não ter apresentado PRO) no grupo LF<sub>3</sub>, enquanto no grupo L, a probabilidade era de 0%. A solução LF<sub>3</sub>, portanto, apresentou-se menos tóxica que a solução L.

*Gráfico 9. Curvas da probabilidade de um animal estar no estado latente para a PRO em função do tempo (em minutos) para os grupos contendo lidocaína como sal anestésico.*

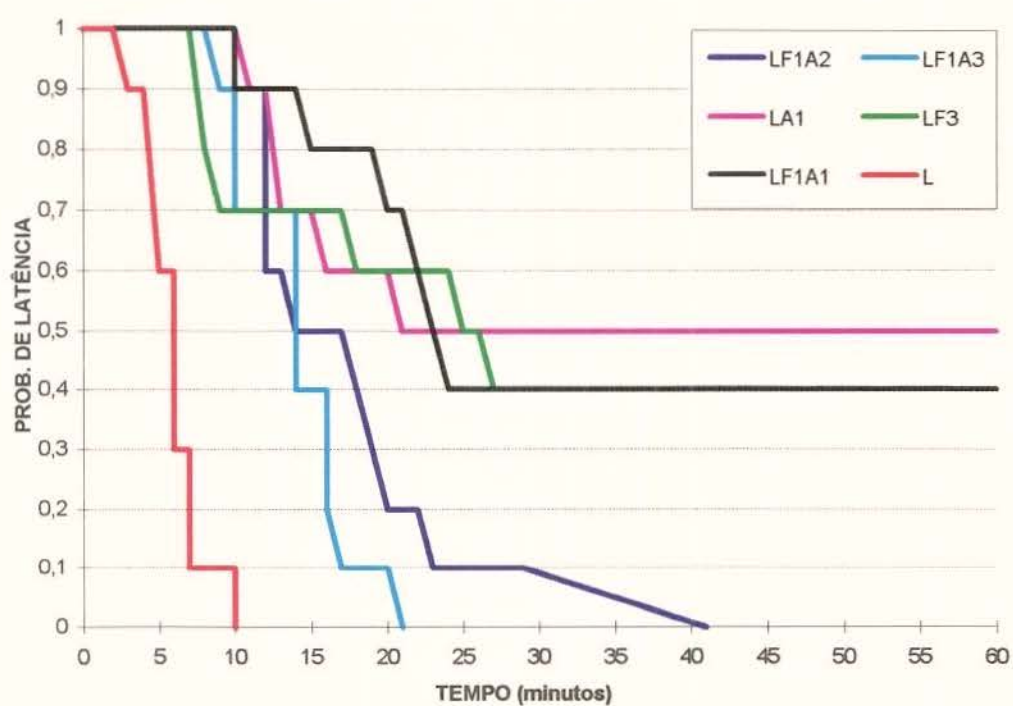


## - Latência da Convulsão (gráfico10)

Teste	estatística $\chi^2$	pr > $\chi^2$
Log-Rank	83,09	0,0001

Houve diferença significativa entre os grupos. Pela análise do gráfico 10 observou-se que os grupos LF<sub>1</sub>A<sub>1</sub>, LA<sub>1</sub> e LF<sub>3</sub> levavam mais tempo para entrar em convulsão. Em seguida, com um tempo de latência menor estavam os grupos LF<sub>1</sub>A<sub>3</sub> e LF<sub>1</sub>A<sub>2</sub>. O grupo L foi o que apresentou a menor latência de todos.

*Gráfico 10. Curvas da probabilidade de um animal estar no estado latente para a convulsão em função do tempo (em minutos) para os grupos contendo lidocaína como sal anestésico.*

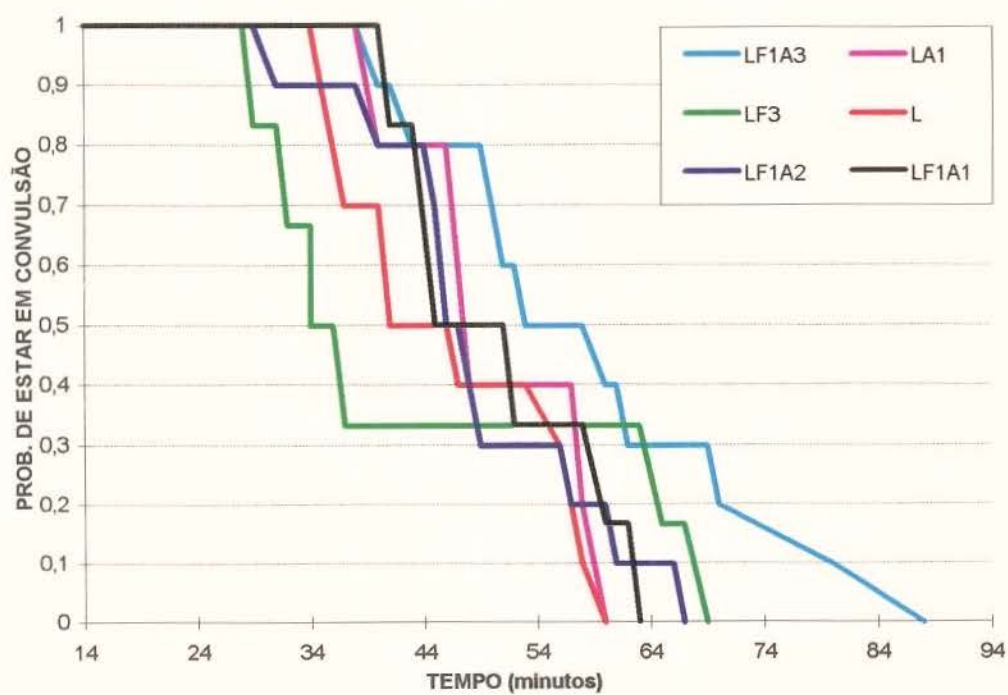


- Duração da Convulsão (gráfico 11)

Teste	estatística $\chi^2$	pr > $\chi^2$
Log-Rank	6,97	0,2441

Não houve diferença significativa entre estes grupos quanto à duração da convulsão.

Gráfico 11. Curvas da probabilidade de um animal estar no estado convulsivo em função do tempo (em minutos) para os grupos contendo lidocaina como sal anestésico.



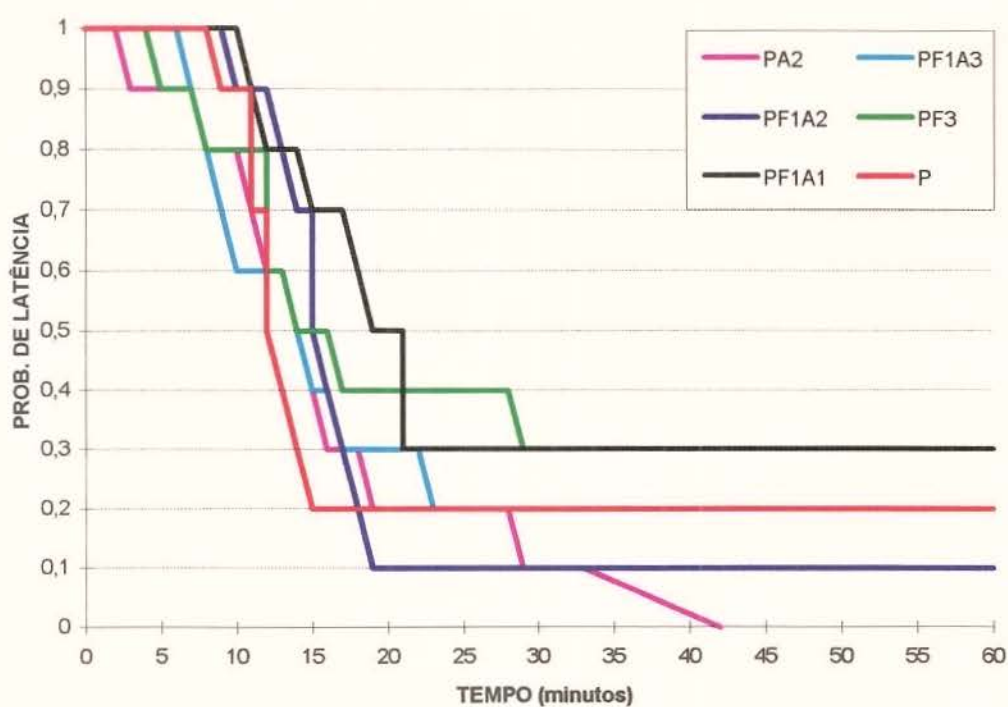
## b) Grupos contendo Prilocaina

- Latência da PRO (gráfico 12)

Teste	estatística $\chi^2$	pr > $\chi^2$
Log-Rank	3,74	0,588

Não houve diferença significativa entre os grupos.

Gráfico 12. Curvas da probabilidade de um animal estar no estado latente para a PRO em função do tempo (em minutos) para os grupos contendo prilocaina como sal anestésico.



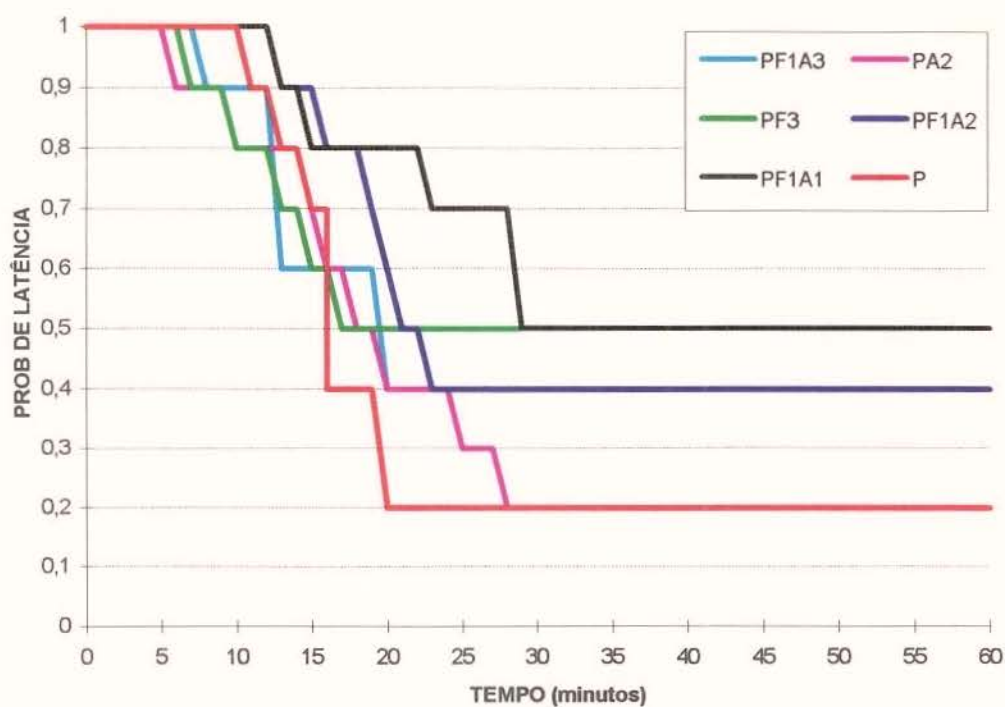


- Latência da Convulsão (gráfico 13)

Teste	estatística $\chi^2$	pr > $\chi^2$
Log-Rank	4,29	0,508

Não houve diferença significativa entre os grupos.

*Gráfico 13. Curvas da probabilidade de um animal estar no estado latente para a convulsão em função do tempo (em minutos) para os grupos contendo prilocaina como sal anestésico.*

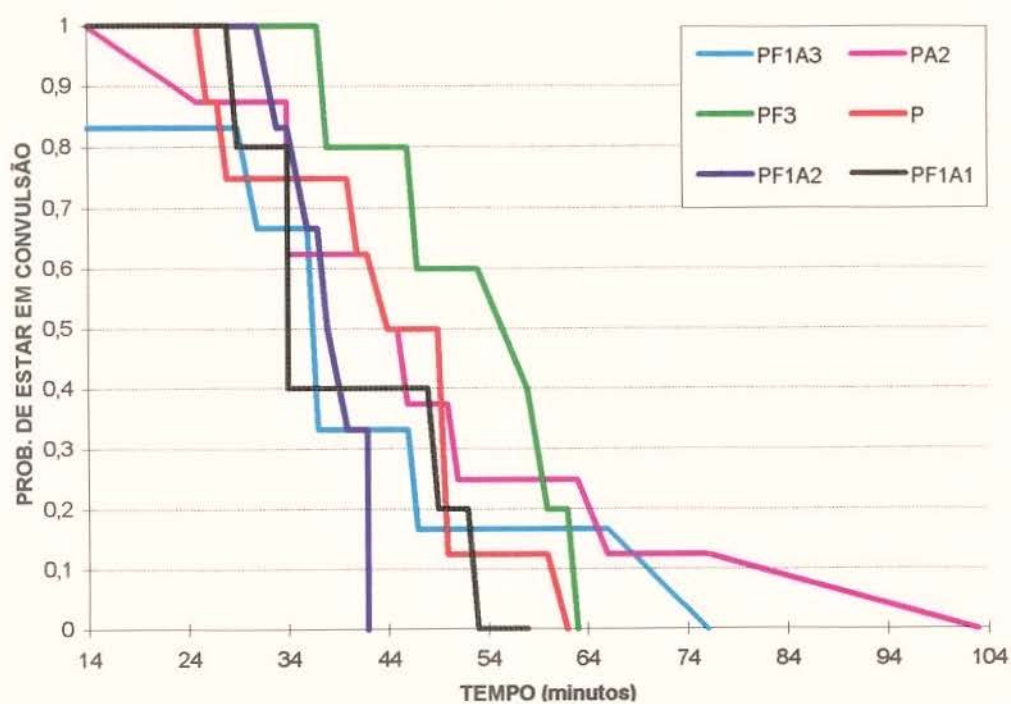


- Duração da Convulsão (gráfico 14)

Teste	estatística $\chi^2$	pr > $\chi^2$
Log-Rank	5,66	0,3405

Não houve diferença significativa entre os grupos.

Gráfico 14. Curvas da probabilidade de um animal estar no estado convulsivo em função do tempo (em minutos) para os grupos contendo prilocaina como sal anestésico.



## 8. DISCUSSÃO

A literatura mostra uma grande variação nas estimativas de  $DL_{50}$  da lidocaína, via subcutânea, em camundongos (tabela 11).

*Tabela 11. Estimativas de  $DL_{50}$  da lidocaína, lidocaína com adrenalina e lidocaína com felipressina (em mg/kg), via subcutânea em camundongos, publicadas por vários autores.*

Autor	Lidocaína		Lidocaína + Adrenalina (adr)		Lidocaína + Felipressina (fel)		$DL_{50}$ (mg/kg)	$DL_{50}$
	$DL_{50}$ (mg/kg)	conc. lido %	$DL_{50}$ (mg/kg)	conc. adrenalina	$DL_{50}$ (mg/kg)	conc. fel UI/ml	adr	fel
Höller, 1952	240		170	1: 80.0000				
Harnisch, 1953	300							
Truant, 1958	360 ± 13	2						
Frahm, 1958	450	1						
Koelzer & Wehn, 1959	248	5	213	1: 50.000				
Henn, 1960	314 ± 21	2,5-3,5	317 ± 52	1: 100.000				
Henn, 1960	278 ± 7	2,5-3,5	310 ± 14	1: 100.000				
Åström et al, 1964	340 ± 20	2	200 ± 10 230 ± 10	1: 200.000 1: 100.000			4,6-5,8	
Åkerman, 1966	238 ± 11	0,1-2,0	212 ± 11 196 ± 7	1: 200.000 1: 100.000	311 ± 15 288 ± 15	0,1 0,5		
De Biase, 1970	400	2,0 (?)					40	110 mg/kg
Jong & Bonin, 1981	462,7 ± 23,8	(?)						
este estudo (1995)	192,2 ± 12,2	2	162,2 ± 3,1	1: 100.000	221,1 ± 12,1	0,03	3,3 ± 0,57	> 1000 UI/ml

1 UI = 0,018 mg (ÅKERMAN, 1966)

Como esses estudos foram feitos com diferentes concentrações do sal anestésico, em alguns deles tendo sido feito ajuste do pH para que a solução ficasse com um pH mais próximo dos tecidos do organismo, parece razoável essa discrepância de resultados.

Entretanto, JONG & BONIN (1980), ao estudarem a dose convulsiva e a dose letal, com soluções de diferentes pHs, de bupivacaína (pH 5,7 e 3,5) e de lidocaína (pH 6,2 e 3,5), não encontraram diferenças estatisticamente significantes nas estimativas de  $DC_{50}$  e  $DL_{50}$ , atribuindo esse resultado à ampla capacidade tampão reserva do tecido normal.

A explicação para essas diferenças poderia situar-se então no animal utilizado nesses experimentos. HENN (1960), apesar de concordar com FRAHM (1958) de que se pode obter resultados distintos com diferentes linhagens, não especifica qual foi usada em seu estudo, referindo apenas a camundongos albinos da mesma linhagem, com peso entre 18 e 22g. ÅSTRÖM et al (1964) utilizaram a linhagem DDS com peso entre 17 e 22 g, e DE BIASE (1970), a linhagem SWISS com 22 a 24 g "do mesmo sexo". ÅKERMAN (1966) relata ter utilizado camundongos albinos machos com peso ao redor de 20 g. Informações mais completas são encontradas nas publicações de TRUANT (1958) e JONG & BONIN (1981). Ambos utilizaram fêmeas, sendo que o primeiro estudou a linhagem Rockland (18-22 g) e o último a linhagem Charles River (30-35 g).

Vários trabalhos publicados mostram que realmente existem diferenças entre linhagens de uma mesma espécie (BRODIE, 1956; SHERMAN, 1963; GREEN, 1968; ROSALEN et al, 1992).

Além da variação entre linhagens distintas, também há diferenças na frequência de convulsões, dependendo do horário em que o anestésico é injetado (MOORE, 1977). Este fator também deve ser levado em consideração. Apenas os estudos de JONG & BONIN (1981) relatam o horário de injeção - entre 9 e 11 horas da manhã.

Os trabalhos anteriores a 1958 [e mesmo mais recentes como DE BIASE, (1970)] não mencionam a análise estatística dos dados obtidos.

Nos trabalhos revisados, as estimativas de  $DL_{50}$ , até a década de 70, eram calculadas pelo método gráfico de MILLER & TAINTER (1944) para o "probit", sendo a comparação entre os grupos feita através do teste t.

No teste t as comparações são feitas duas a duas, sendo a significância calculada para cada uma dessas comparações. Em estudos com vários grupos, onde todos devem ser comparados

entre si, este teste não pode ser aplicado, pois os contrastes não são ortogonais, ou seja, as comparações não são independentes. Com esse teste não é possível calcular o nível de significância conjunta para todas as comparações. Portanto, o teste t não é adequado para essa comparação.

Estudos mais recentes passaram a usar o "probit" ou o modelo logístico para o cálculo da  $DL_{50}$ , sendo os grupos comparados pelo intervalo de confiança.

Entretanto, a escolha de um desses modelos ("probit", logístico, derivação log-log) deve ser feita após a aplicação de cada um deles, verificando aquele que permite um melhor ajuste.

Embora os trabalhos citados apresentem variáveis distintas (linhagem, sexo, peso etc.) e mesmo diferente análise dos dados, vamos traçar uma comparação entre os resultados deste estudo com os demais.

Os resultados deste estudo estão mais próximos dos obtidos por HÖLLER et al (1952) e ÅKERMAN (1966).

Com exceção dos estudos de HENN (1960), todos os autores que estudaram a toxicidade da associação da lidocaína com adrenalina, via subcutânea, em camundongos, observaram uma diminuição da  $DL_{50}$  em comparação com a solução sem vasoconstritor.

TAYLOR & DORRIS (1989) não observaram aumento da toxicidade da lidocaína quando associada à adrenalina, por via intravenosa em camundongos. Entretanto, para todas as doses de anestésico local injetado, a dose de adrenalina era sempre mantida constante (15  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ).

No presente estudo foi observada uma diminuição da  $DL_{50}$  da lidocaína quando associada à adrenalina ( $DL_{50} = 162,2 \text{ mg}/\text{kg}$ ), quando comparada à lidocaína sem vasoconstritor ( $DL_{50} = 192,2 \text{ mg}/\text{kg}$ ); entretanto, essa diminuição não foi estatisticamente significativa (na comparação usando o intervalo de confiança obtido pelo método Fieller. Com o método Delta, menos rigoroso, há diferença estatisticamente significativa).

Da mesma forma que o relatado por ÅKERMAN (1966), os resultados deste estudo revelaram uma diminuição da toxicidade, quando a lidocaína era associada à felipressina ( $DL_{50} = 221,1$ ). Essa diminuição, entretanto, não foi estatisticamente significativa, provavelmente

devido à menor concentração de felipressina (0,03 UI/ml) em comparação às concentrações utilizadas por ÅKERMAN (0,1 e 0,5 UI/ml).

Além disso, como já citado, a própria diferença de tratamento estatístico dos dados e a comparação dos mesmos também poderiam explicar essa distinção (ausência de diferença estatística entre os grupos) entre o presente estudo e os demais.

Com relação à  $DL_{50}$ , comparando todas as soluções, observa-se que as menos tóxicas são as que contêm lidocaína com felipressina 0,03 UI/ml ( $LF_3$ ) e lidocaína com adrenalina 1: 300.000 e felipressina 0,01 UI/ml ( $LF_1A_3$ ), seguidas pela solução de lidocaína sem vasoconstritor (L).

As soluções que continham adrenalina em concentrações maiores foram as mais tóxicas ( $LF_1A_2$ ,  $LA_1$ ,  $LF_1A_1$ ), não havendo diferença estatisticamente significativa entre elas.

Estritamente com relação à dose convulsiva, entretanto, as soluções de lidocaína contendo as maiores concentrações de vasoconstritor parecem oferecer a maior proteção ao animal. Dessa forma, a solução contendo lidocaína com adrenalina 1: 100.000 e felipressina 0,01 UI/ml ( $LF_1A_1$ ) foi a menos tóxica, seguida pela solução contendo lidocaína com felipressina 0,03 UI/ml ( $LF_3$ ) e a que continha lidocaína com adrenalina 1: 100.000 ( $LA_1$ ), sem diferença estatística entre esses grupos. As soluções contendo menores concentrações de vasoconstritor  $LF_1A_2$  e  $LF_1A_3$  foram menos eficientes, enquanto que a mais tóxica de todas foi a solução de lidocaína sem vasoconstritor.

Apesar da quantidade de adrenalina injetada ter sido bem inferior às doses utilizadas no estudo de  $DL_{50}$  para este vasoconstritor e de não exercerem efeito tóxico como constatado pela injeção das soluções de vasoconstritores em quantidade equivalente às máximas utilizadas em cada grupo, observa-se, pelos resultados, que à medida que as concentrações do sal anestésico e da adrenalina aumentaram, a toxicidade também aumentou, embora sem diferença estatística, quando comparada à solução sem vasoconstritor.

Na segunda parte deste estudo observou-se ainda que, para uma mesma dose, o tempo de latência da PRO era aumentado por todas as soluções contendo vasoconstritor. A latência da convulsão era aumentada de forma significativa pelas soluções que continham adrenalina em maior concentração ( $LA_1$  e  $LF_1A_1$ ), bem como pela solução  $LF_3$ . As soluções  $LF_1A_2$  e  $LF_1A_3$  também

aumentaram a latência da PRO e da convulsão, porém de forma menos efetiva que as soluções LA<sub>1</sub> e LF<sub>1</sub>A<sub>1</sub>. Uma vez iniciada a convulsão, entretanto, a duração da mesma não diferia entre as várias soluções.

ÅSTRÖM et al (1964) também observaram que a adição de adrenalina não reduzia toxicidade da lidocaína, porém retardava o aparecimento dos sinais tóxicos.

Os resultados do presente estudo poderiam, em parte, ser explicados com base nos estudos de GERKE et al (1977b), que observaram uma potenciação da ação vasoconstritora da adrenalina pela lidocaína quando as soluções eram utilizadas em doses volumétricas de até 0,4 ml. Acima desse valor havia uma diminuição da resposta constritora da adrenalina.

Apesar de contraditória, essa ação protetora da adrenalina sobre a convulsão (doses menores) em oposição à ocorrência de morte poderia explicar o aumento da duração da anestesia nos experimentos clínicos e a diminuição da DL<sub>50</sub> na maioria dos experimentos relatados na literatura.

As associações de vasoconstritores, apesar de efetivas em experimentos com estrutura isolada (ALTURA et al, 1965, WATERSON & HUME, 1973, WATERSON, 1974 e 1975, FROST et al, 1976 e GERKE, 1977a) e em estudos de duração da anestesia, tanto clínico (RANALI, 1990), quanto em animais (BASTOS, 1985), não são mais eficazes em reduzir a toxicidade nas doses mais altas.

O aumento da toxicidade, à medida que se aumenta a dose (tanto da lidocaína, quanto dos vasoconstritores), parece estar mais relacionado ao aumento da dose de adrenalina. A ação sinérgica da felipressina sobre a ação constritora da adrenalina, nas doses maiores, é insuficiente para impedir o aumento da toxicidade.

A felipressina, por sua vez, não parece exercer qualquer efeito tóxico nas doses estudadas, já que a solução contendo este vasoconstritor na concentração mais alta (0,03 UI/ml) ficou entre as menos tóxicas, tanto com relação à ocorrência de convulsão, quanto de morte.

Este resultado não é surpreendente, se levarmos em consideração que mesmo a dose de 1000 UI/kg não foi suficiente para causar qualquer efeito tóxico, tanto via subcutânea, quanto intraperitoneal.

DE BIASE (1970) é o único autor a estabelecer uma  $DL_{50}$  para a felipressina (110 mg/kg, equivalente a aproximadamente 6111 UI/kg), embora não relate qual a concentração da solução utilizada e a sua procedência, além de não citar o método utilizado para o cálculo da  $DL_{50}$  e nem a análise estatística dos dados.

Segundo BERDE et al (1961), apesar dos vários milhares de unidades de felipressina injetados, ainda não se conseguiu estabelecer um valor de  $DL_{50}$  para este vasoconstritor.

Para a adrenalina, o valor de  $DL_{50}$  via subcutânea encontrado neste estudo (3,3 mg/kg) está mais próximo do obtido por ÅSTRÖM et al (1964), que ficou entre 4,6 e 5,8 mg/kg.

Os relatos de toxicidade da prilocaína ( $DL_{50}$ ) em animais são em menor número e parecem apresentar menor discrepância de resultados (tabela 12).

**Tabela 12.** Estimativas de  $DL_{50}$  da prilocaína, prilocaína com adrenalina e prilocaína com felipressina (em mg/kg), via subcutânea em camundongos, publicadas por vários autores.

Autor	Prilocaína		Prilocaína + Adrenalina (adr)		Prilocaína + Felipressina	
	$DL_{50}$ (mg/kg)	conc. prilo %	$DL_{50}$ (mg/kg)	conc. adrenalina	$DL_{50}$ (mg/kg)	conc. fel UI/ml
Åström et al, 1964	600 ± 50	4	430 ± 20 410 ± 30	1: 200.000 1: 100.000		
Åkerman, 1966	637 ± 18	0,1 a 2	446 ± 16 386 ± 14	1: 200.000 1: 100.000	770 ± 19 719 ± 12	0,1 0,5
De Biase, 1970	520					
este estudo 1995	605,6 ± 37,6	3	473,1 ± 43,2	1: 200.000	678,8 ± 26,7	0,03

A exemplo do que foi observado para a lidocaína, a adição de adrenalina levou a uma diminuição da  $DL_{50}$ , enquanto que a felipressina promoveu um aumento desse valor, embora ambos os grupos ( $PA_2$  e  $PF_3$ ) não possam ser considerados diferentes da solução sem vasoconstritor. A solução  $PF_3$ , entretanto, é menos tóxica que a  $PA_2$  e estatisticamente diferente desta.



Essa ausência de diferença estatística entre os grupos  $PA_2$  e P, e  $PF_3$  e P poderia ser creditada à grande variabilidade dos resultados nos grupos  $PA_2$  e P, refletindo-se nos intervalos de confiança e, dessa forma, na comparação entre os grupos, apesar dos resultados de ÅSTRÖM et al (1964) também apresentarem uma alta variabilidade, muito próxima da encontrada neste estudo. Especificamente para o grupo  $PF_3$ , a falta de diferença estatística poderia ter ocorrido ainda devido à menor concentração de felipressina usada, em comparação com as concentrações usadas por ÅKERMAN (1966).

Como já relatado para a lidocaína, as diferenças de tratamento estatístico dos dados também poderiam contribuir para essas diferenças entre os trabalhos citados.

Todas as soluções que continham associação de dois vasoconstritores foram mais tóxicas que as demais.

Em relação ao parâmetro convulsão houve um comportamento semelhante ao das soluções contendo lidocaína. Assim, as soluções de prilocaína com adrenalina 1: 100.000 e felipressina 0,01 UI/ml ( $PF_1A_1$ ) e com felipressina 0,03 UI/ml ( $PF_3$ ) apresentaram menor toxicidade. Em termos absolutos, a solução sem vasoconstritor (P) foi a que apresentou a menor estimativa de  $DC_{50}$ . Entretanto, ao se fazer a análise estatística, foi observado que o único grupo estatisticamente diferente foi o  $PF_1A_1$  (associação de felipressina e adrenalina em maior concentração), sendo, portanto, o menos tóxico.

Da mesma forma que a lidocaína, esse aumento da toxicidade da prilocaína pela adrenalina nas doses maiores (DL) em contraste com as doses menores (DC) poderia ser explicado pelos estudos de GERKE et al (1977b), que também observaram uma potenciação da ação da adrenalina pela prilocaína em doses volumétricas de até 0,4 ml e uma diminuição da ação constritora da adrenalina em doses volumétricas maiores.

No estudo da latência da PRO e da latência e duração da convulsão, ao contrário dos resultados obtidos com a lidocaína, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos contendo prilocaína em nenhum dos parâmetros pesquisados.

Estes achados estão de acordo com os obtidos por ÅSTRÖM et al (1964), que também observaram um retardo no aparecimento de sinais de toxicidade apenas quando a adrenalina era associada à lidocaína, mas não com a prilocaína. Segundo esses autores, esse fato seria devido à absorção mais rápida da lidocaína a partir do local injetado. De acordo com ÅSTRÖM et al (1964), a adição de adrenalina não reduzia a toxicidade da lidocaína e da prilocaína.

Embora usando um modelo experimental diferente [doses de lidocaína (100 mg/kg) e prilocaína (200 mg/kg) que produziam convulsões de duração semelhante], ÅKERMAN (1969) encontrou resultados parecidos. Verificou que a adição de adrenalina a 1: 100.000 a esses anestésicos locais reduzia a frequência das convulsões e da PRO, sendo estes efeitos mais marcados para a solução de lidocaína. A adição de felipressina a 0,05 UI/ml também levava a uma redução desses sinais de toxicidade, porém na dose de 0,01 UI/ml foi observado um efeito muito pequeno nesses parâmetros em relação a ambos os anestésicos citados.

Os resultados do presente trabalho apontam uma tendência (embora não estatisticamente significativa) da adrenalina em aumentar a toxicidade dos anestésicos locais nas doses mais altas ( $DL_{50}$ ) em contraste com a proteção observada no estudo de  $DC_{50}$ . Essa situação leva à necessidade de estudos futuros visando à elucidação dos possíveis fatores que possam estar envolvidos nessa ação contraditória.

## 9. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos podemos concluir que:

1. A adrenalina, em altas doses, pode aumentar a toxicidade da lidocaína e prilocaína, injetadas via subcutânea, embora no modelo experimental estudado não tenha sido observada diferença estatística quando comparado com o anestésico local isolado (sem vasoconstritor).
2. Isoladamente, a felipressina não parece alterar a toxicidade dos anestésicos locais estudados, provavelmente devido a sua baixa toxicidade intrínseca. Porém, quando associada à adrenalina não foi capaz de potencializar sua ação vasoconstritora.
3. Em relação à convulsão, apenas a solução contendo os dois vasoconstritores e na maior concentração de adrenalina foi estatisticamente melhor em reduzir a toxicidade da prilocaína. Para a lidocaína todas as soluções contendo vasoconstritor foram efetivas em reduzir a toxicidade (incidência de convulsão), sendo melhores as soluções contendo felipressina a 0,03 UI/ml e as que possuíam adrenalina em maior concentração (1: 100.000), associadas ou não à felipressina.
4. Dado que o objetivo da associação de dois vasoconstritores é a obtenção do mesmo efeito vasoconstritor, porém com menores concentrações dessas substâncias que as normalmente utilizadas, não se justifica essa associação dentro dos resultados obtidos no modelo experimental estudado.

## 10. ANEXOS

**Anexo 1.** Tabelas do número de animais mortos em função das doses utilizadas para cada um dos grupos contendo lidocaina no estudo da Dose Letal 50% (via subcutânea).

Grupo LF<sub>1</sub>A<sub>1</sub>

Dose (mg/kg)	125	135	145	150	160	180	190	200	250
nº mortos	0	1	2	5	5	9	8	9	10

Grupo LF<sub>1</sub>A<sub>2</sub>

Dose (mg/kg)	120	140	145	150	200	225	250
nº mortos	0	3	3	6	7	8	10

Grupo LF<sub>1</sub>A<sub>3</sub>

Dose (mg/kg)	150	165	170	175	200	250	300
nº mortos	1	2	3	6	5	6	8

Grupo LA<sub>1</sub>

Dose (mg/kg)	150	155	157	160	175	200
nº mortos	1	3	4	7	6	10

Grupo LF<sub>3</sub>

Dose (mg/kg)	150	165	175	200	225	300	350	400	500
nº mortos	0	1	4	5	5	6	10	10	10

## Grupo L

Dose (mg/kg)	125	145	175	200	250	300	400
nº mortos	0	3	4	6	8	8	10

**Anexo 2. Tabelas do número de animais mortos em função das doses utilizadas para cada um dos grupos contendo prilocaína no estudo da Dose Letal 50% (via subcutânea).**

**Grupo PF<sub>1</sub>A<sub>1</sub>**

Dose (mg/kg)	300	320	350	400	450	500
nº mortos	0	3	5	4	7	10

**Grupo PF<sub>1</sub>A<sub>2</sub>**

Dose (mg/kg)	250	260	270	290	300	400	500	600	800
nº mortos	0	2	5	5	7	9	10	10	9

**Grupo PF<sub>1</sub>A<sub>3</sub>**

Dose (mg/kg)	200	225	250	260	270	300	400	500	600
nº mortos	1	0	1	4	3	6	10	8	10

**Grupo PA<sub>2</sub>**

Dose (mg/kg)	300	400	500	600	650	700
nº mortos	2	4	5	6	7	9

**Grupo PF<sub>3</sub>**

Dose (mg/kg)	400	500	550	600	700	800
nº mortos	0	0	3	4	7	7

**Grupo P**

Dose (mg/kg)	300	350	370	450	550	600	700	800	900
nº mortos	0	1	1	3	3	5	7	7	9

**Anexo 3.** Tabelas do número de animais mortos em função das doses utilizadas para o estudo da Dose Letal 50% dos vasoconstritores adrenalina (via subcutânea) e felipressina (vias subcutânea e intraperitoneal).

Adrenalina

Dose (mg/kg)	1	2	3	4	5	10	15	20
nº mortos	1	3	5	6	7	8	10	9

Felipressina via subcutânea

Dose (UI/kg)	500	1000
nº mortos	0	0

Felipressina via intraperitoneal

Dose (UI/kg)	500	1000
nº mortos	0	0

**Anexo 4.** Tabelas do número de animais que entraram em convulsão em função das doses utilizadas para cada um dos grupos contendo lidocaina no estudo da Dose Convulsiva 50% (via subcutânea).

Grupo LF<sub>1</sub>A<sub>1</sub>

Dose (mg/kg)	50	60	70	80	90	95	100	125	150
animais em convulsão	0	0	1	2	2	3	6	6	8

Grupo LF<sub>1</sub>A<sub>2</sub>

Dose (mg/kg)	50	60	70	72	75	80	90	100
animais em convulsão	0	0	3	2	6	7	7	10

Grupo LF<sub>1</sub>A<sub>3</sub>

Dose (mg/kg)	50	60	65	68	69	70	80	100
animais em convulsão	1	1	3	2	5	7	7	10

Grupo LA<sub>1</sub>

Dose (mg/kg)	50	60	70	72	75	100	110	118	125	150
animais em convulsão	0	0	0	2	4	5	6	8	10	10

Grupo LF<sub>3</sub>

Dose (mg/kg)	50	75	85	92	100	115	120	125
animais em convulsão	0	2	2	4	6	7	9	10

## Grupo L

Dose (mg/kg)	20	30	40	45	50	55	60	100
animais em convulsão	0	2	3	3	4	5	7	10

**Anexo 5.** Tabelas do número de animais que entraram em convulsão em função das doses utilizadas para cada um dos grupos contendo prilocaina no estudo da Dose Convulsiva 50% (via subcutânea).

Grupo PF<sub>1</sub>A<sub>1</sub>

Dose (mg/kg)	150	175	185	195	200	250	300	400	450	480	500	600
animais em convulsão	0	0	1	2	4	5	5	7	6	6	9	9

Grupo PF<sub>1</sub>A<sub>2</sub>

Dose (mg/kg)	100	150	175	185	195	200	250	300	350	400
animais em convulsão	0	1	3	1	3	6	6	8	8	9

Grupo PF<sub>1</sub>A<sub>3</sub>

Dose (mg/kg)	100	150	175	185	190	195	200	250	275	300
animais em convulsão	0	2	2	4	3	4	6	6	8	9

Grupo PA<sub>2</sub>

Dose (mg/kg)	125	135	140	145	150	200	250	300	350	400
animais em convulsão	0	0	0	0	4	6	8	7	7	9

Grupo PF<sub>3</sub>

Dose (mg/kg)	150	175	200	250	275	300	350	400
animais em convulsão	0	2	3	5	6	8	8	9

Grupo P

Dose (mg/kg)	100	150	200	225	250	300	350
animais em convulsão	0	2	4	8	8	7	10



**Anexo 6.** Tabelas de Latência da PRO, Latência da Convulsão e Duração da Convulsão (em minutos) para os grupos contendo lidocaina (N corresponde à não ocorrência do efeito estudado).

Grupo LF<sub>1</sub>A<sub>1</sub>

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	21	16	13	15	22	30	18	13	9	18
Latência Convulsão	N	23	15	N	N	N	24	20	10	22
Duração Convulsão	N	44	45	N	N	N	41	52	63	60

Grupo LF<sub>1</sub>A<sub>2</sub>

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	12	10	10	8	11	9	10	12	8	21
Latência Convulsão	14	12	12	10	19	12	20	23	18	41
Duração Convulsão	45	48	57	61	31	49	67	46	46	40

Grupo LF<sub>1</sub>A<sub>3</sub>

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	12	12	9	6	10	8	8	12	16	10
Latência Convulsão	16	17	14	9	14	10	10	16	21	14
Duração Convulsão	53	40	42	60	62	80	88	50	51	70

Grupo LA<sub>1</sub>

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	13	33	12	10	13	9	17	23	22	11
Latência Convulsão	21	N	13	11	16	13	N	N	N	N
Duração Convulsão	40	N	58	60	48	47	N	N	N	N

Grupo LF<sub>3</sub>

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	5	5	5	6	6	N	9	N	6	10
Latência Convulsão	9	8	8	N	18	N	N	N	27	25
Duração Convulsão	34	37	32	N	29	N	N	N	69	65

## Grupo L

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	N	5	6	3	4	5	8	3	5	4
Latência Convulsão	3	6	7	4	5	7	11	4	6	6
Duração Convulsão	36	37	41	57	35	47	41	60	56	58

**Anexo 7. Tabelas de Latência da PRO, Latência da Convulsão e Duração da Convulsão (em minutos) para os grupos contendo prilocaína (N corresponde à não ocorrência do efeito estudado).**

Grupo PF<sub>1</sub>A<sub>1</sub>

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	N	21	15	12	N	19	21	18	N	11
Latência Convulsão	N	N	23	15	N	29	N	23	N	13
Duração Convulsão	N	N	29	49	N	34	N	34	N	53

Grupo PF<sub>1</sub>A<sub>2</sub>

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	18	16	17	10	15	13	N	19	14	15
Latência Convulsão	21	23	20	13	19	16	N	N	N	N
Duração Convulsão	38	33	42	36	40	42	N	N	N	N

Grupo PF<sub>1</sub>A<sub>3</sub>

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	15	N	10	9	8	7	14	23	N	17
Latência Convulsão	20	N	13	13	13	8	20	N	N	N
Duração Convulsão	31	N	†	37	37	47	76	N	N	N

Obs. † = morte do animal

Grupo PA<sub>2</sub>

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	3	14	29	8	19	11	42	12	15	16
Latência Convulsão	6	15	N	10	28	16	N	18	21	25
Duração Convulsão	103	34	N	51	25	46	N	34	43	66

Grupo PF<sub>3</sub>

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	12	5	8	14	12	N	N	N	17	29
Latência Convulsão	17	7	10	15	13	N	N	N	N	N
Duração Convulsão	38	63	58	47	60	N	N	N	N	N

Grupo P

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	12	12	15	13	11	11	N	14	10	N
Latência Convulsão	16	13	20	16	15	20	N	16	11	N
Duração Convulsão	44	41	28	48	50	48	N	26	62	N

## 11. SUMMARY

Previous studies have shown a potentiation of the vasoconstrictor action of adrenaline (adr) by felypressin (fel) in lower concentrations than the clinically used ones.

In this study it was evaluated the acute toxicity ( $LD_{50}$ ,  $CD_{50}$  and the latency times of loss of righting reflex (LRR) and convulsion as well as the duration of convulsion) of a local anesthetic, lidocaine 2% (lido) or prilocaine 3% (prilo) when administered together with this association of two vasoconstrictors.

For this experiment 2290 male Swiss mice (17-22g) were randomly divided in groups: G1-  $PF_1A_1$  (prilo + fel 0.01 UI/ml + adr 1:100,000), G2-  $PF_1A_2$  (prilo + fel 0.01 UI/ml + adr 1:200,000), G3-  $PF_1A_3$  (prilo + fel 0.01 UI/ml + adr 1:300,000), G4-  $LF_1A_1$  (lido + fel 0.01 UI/ml + adr 1:100,000), G5-  $LF_1A_2$  (lido + fel 0.01 UI/ml + adr 1:200,000), G6-  $LF_1A_3$  (lido + fel 0.01 UI/ml + adr 1:300,000), G7-  $PA_2$  (prilo + adr 1:200,000), G8-  $LA_1$  (lido + adr 1:100,000), G9-  $PF_3$  (prilo + fel 0.03 UI/ml), G10-  $LF_3$  (lido + fel 0.03 UI/ml), G11- L (lido), G12- P (prilo).

It was also administered solutions containing only vasoconstrictors (without the anesthetic) in doses equivalent to the maximal used in each group (control groups). The mice were injected subcutaneously (10 mice/dose). After treatment the animals were observed until complete recovery ( $CD_{50}$ ) or after 24 hours ( $LD_{50}$ ).

$CD_{50}$  and  $LD_{50}$  values were calculated by the GLIM system (logit analysis) and compared by their 95% confidence intervals. The statistical analysis of the latency times of the LRR and the convulsion as well as the duration of the convulsion were done by Kaplan Meier's product limit estimator and compared by Log-Rank's test.

$LD_{50}$  studies showed that for both anesthetics the solutions with higher concentrations of adrenaline ( $LA_1$ ,  $LF_1A_1$ ,  $LF_1A_2$ ,  $PF_1A_1$ ,  $PF_1A_2$ ) were more toxic. The opposite was observed in the  $CD_{50}$  studies. No alterations were observed in the control groups.

With lidocaine all the solutions increased the latency of LRR. The latency of convulsion was effectively increased in groups  $LF_1A_1$ ,  $LA_1$  e  $LF_3$ , but once the convulsion was

achieved there was no difference on the duration of it. With prilocaine there was no statistical difference among the groups in all the variables studied.

Based upon the experimental model studied we concluded that there is no advantage in the association of two vasoconstrictors concerning the toxicity of lidocaine and prilocaine solutions.

**Key-Words:** local anesthetics, adrenalin, drug toxicity.

## 12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS<sup>1</sup>

1. ABRAHAM-INPIJN, L., BORGMEIJER-HOELEN, A., GORTZAK, R.A.T. Changes in blood pressure, heart rate, and electrocardiogram during dental treatment with use of local anesthesia. J. Am. dent. Ass., Chicago, v.116, n.4, p.531-536, Apr. 1988.
2. ADRIANI, J., MEHTA, D., NARAGHI, M. Mixtures of local anesthetics - the effectiveness of combinations of benzocaine, butamben, and tetracaine topically. Anesth. Rev., West Redding, v.8, n.12, p.15-19, Dec. 1981.
3. AELLIG, W.H., et al. Cardiac effects of adrenaline and felypressin as vasoconstrictors of local anesthesia for oral surgery under diazepam sedation. Br. J. Anaesth., London, v.42, p.174-176, Feb. 1970. Apud CASSIDY, J.P., PHERO, J.C., GRAU, W.H. op. cit. Ref. 20.
4. ÅKERMAN, B. Effects of felypressin (Octapressin<sup>R</sup>) on the acute toxicity of local anaesthetics. Acta pharmac. tox., Copenhagen, v.27, p.318-330, 1969.
5. \_\_\_\_\_. On the felypressin (Octapressin<sup>R</sup>) as an adjunct to lidocaine and prilocaine - an experimental study in animals. Acta pharmac. tox., Copenhagen, v.24, n.4, p.377-388, 1966.
6. \_\_\_\_\_, et al. Studies on the absorption, distribution and metabolism of labelled prilocaine and lidocaine in some animal species. Acta pharmac. tox., Copenhagen, v.24, n.4, p.389-403, 1966.

---

<sup>1</sup> De acordo com a NBR-6023 da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), de 1989. Abreviatura dos Periódicos Conforme o World List of Scientific Periodicals.

7. ALMASI, W., FREWIN, D.B. A comparative study on the retention of H<sup>3</sup> lignocaine and H<sup>3</sup> prilocaine in the presence of various vasoconstrictors. Aust. dent. J., Saint Leonards, v.25, n.6, p. 316-318, Dec. 1980.
8. ALTURA, B.M., HERSHEY, S.G., ZWEIFACH, B.W. Effects of a synthetic analogue of vasopressin on vascular smooth muscle. Proc. Soc. exp. Biol. Med., Baltimore, v.119, p.258-261, 1965.
9. ÅSTRÖM, A., PERSSON, N.H. Influence of adrenaline on the action of some local anaesthetic agents tested in rats. Acta pharm. suec., Stockholm, v.2, n.6, p.397-402, Dec. 1965.
10. \_\_\_\_\_, PERSSON, G. Some pharmacological properties of  $\alpha$ -methyl-n-propyl-aminopropionanilide, a new local anesthetic. Br. J. Pharmac. Chemother., London, v.16, n.1, p.32-44, 1961. Apud ÅKERMAN, B., ÅSTRÖM, A., ROSS, S., TELEC, A. op. cit. Ref. 6.
11. \_\_\_\_\_, PERSSON, N.H., ÖRTENGREN, B. The effect of adrenaline on the toxicities and absorptions of L67 (Citanest<sup>®</sup>) and some other local anaesthetics studied in mice and rabbits. Acta pharmac. tox., Copenhagen, v.21, n.2, p.161-171, 1964.
12. BARTELSTONE, H.J., NASMYTH, P.A. Vasopressin potentiation of catecholamine actions in dog, rat, cat, and rat aortic strip. Am. J. Physiol., Bethesda, v.208, p.754-762, 1965.
13. BASTOS, C.P. Anestesia local potencializada: influência do sinergismo entre adrenalina e felipressina sobre a anestesia causada pela prilocaína. Tese (Doutoramento em Ciências, Área de Farmacologia) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 1985. 143p.

14. BERDE, V.B., WEIDMANN, H. CERLETTI, A. Über phenylalanin<sup>2</sup>-lysin-vasopressin. Helv. physiol. pharmac. Acta, v.19, p.285-302, 1961.
15. BÖRNER, H. Ursache der steigerung der adrenalinwirkung auf den kanichenblutdruck durch hypophysenextrakte. Arch. exp. Path. Pharmak., Leipzig, v.79, p.218-249, 1915. Apud BARTELSTONE, H.J., NASMYTH, P.A. op. cit. Ref. 12.
16. BRAID, D.P., SCOTT, D.B. The systemic absorption of local analgesic drugs. Br. J. Anaesth., London, v.37, p.394-404, 1965.
17. BRODIE, B.B. Pathways of drug metabolism. J. Pharm. Pharmac., London, v.8, p.1, 1956. Apud GREEN, C.D. op. cit. Ref. 37.
18. BRODSKY, J.B., BROCK-UTNE, J.G. Mixing local anaesthetics. Br. J. Anaesth., London, v.50, n.12, p.1269, 1978.
19. CARDWELL, J.E., CAWSON, R.A. A trial of lignocaine with 1: 250.000 adrenaline. Br. J. oral Surg., Edinburgh, v.7, p.7-11, 1969.
20. CASSIDY, J.P., PHERO, J.C., GRAU, W.H. Epinephrine: systemic effects and varying concentrations in local anesthesia. Anesth. Prog., Chicago, v.33, n.6, p.289-297, Nov./Dec. 1986.
21. CHERASKIN, E., PRASERTSUNTARASAI, T. Use of epinephrine with local anesthesia in hypertensive patients III. Effect of epinephrine on blood pressure and pulse rate. J. Am. dent. Ass., Chicago, v.57, p. 507-519, Oct. 1958.

22. COLLET, D. Modeling binary data. Londres: Chapman and Hall, 1991. 369p.
23. COLLINS, I.S. Multi-centric clinical trial of a vasoconstrictor-ornithine vasopressin (POR Sandoz). N. Z. med. J., Wellington, v.76, p.77-81, Aug. 1972.
24. CRAWFORD, O.B. Comparative evaluation in peridural anesthesia of lidocaine, mepivacaine, and L67, a new local anesthetic agent. Anesthesiology, Haegerstown, v.25, p.321-329, 1964. Apud ÅKERMAN, B., ÅSTRÖM, A., ROSS, S., TELEC, A. op. cit. Ref. 6.
25. DEASY, M.J., DISTEFANO, V. Effects of local anesthetics on epinephrine - and norepinephrine - induced contractions of rabbit aortic strips. J dent. Res., Washington, v.51, p. 1388-1393, Sept./Oct. 1972.
26. DE BIASE, S. Ricerche farmacologiche e tossicologiche sulla associazione citanest-octapressina. Annali Stomat., Roma, v.19, p.791-800, 1970.
27. FRAHM, M. Beiträge zur pharmakologischen auswertung neuer lokalanalgetica. Anaesthesist, Berlin, v.7, p.44, 1958. Apud HENN, F. op. cit. Ref. 41.
28. FROST, B.R., GERKE, D.C., FREWIN, D.B. The effect of 2-phenylalanine 8-lysine vasopressin (Octapressin<sup>R</sup>) on blood vessels in the rat tail. Aust. J. exp. Biol. med. Sci., Adelaide, v.54, n.4, p.403-411, 1976.
29. GANGAROSA, L.P., HALIK, F.J. A clinical evaluation of local anaesthetic solutions containing graded epinephrine concentrations. Archs oral Biol., Oxford, v.12, p.611-621, 1967.



30. GERKE, D.C., FREWIN, D.B. The comparative effects of prilocaine, lignocaine and cocaine on the response of the rabbit ear artery to adrenaline and noradrenaline. Aust. dent. J., Saint Leonards, v.27, n.1, p.39-44, Feb. 1982.
31. \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, FROST, B.R. The effect of local anaesthetics on the vasoconstrictor response of the isolated perfused artery to adrenaline and noradrenaline. Eur. J. Pharmac., Amsterdam, v.38, n.2, p.243-252, Aug. 1976a.
32. \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_. The synergistic vasoconstrictor effect of Octapressin<sup>R</sup> and catecholamines on the isolated rabbit ear artery. Aust. J. exp. Biol. med. Sci., Adelaide, v.55, n.6, p.737-740, 1977a.
33. \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, WATERSON, J.G. The effects of commercial local anaesthetic solutions on the isolated rabbit ear artery. Aust. dent. J., Saint Leonards, v.22, n.4, p.289-294, Aug. 1977b.
34. \_\_\_\_\_, et al. The effect of local anaesthetics on the neural uptake of catecholamines in isolated arteries - a histochemical study. Aust. J. exp. Biol. med. Sci., Adelaide, v. 54, n.6, p.601-604, Dec. 1976b.
35. \_\_\_\_\_, et al. The use of mixtures of octapressin and adrenaline in local anaesthetic solutions to obtain more effective vasoconstriction. Aust. dent. J., Saint Leonards, v.23, n.3, p.240-243, June, 1978.
36. GOODMAN, L.S., GILMAN, A.G. Goodman e Gilman as bases farmacológicas da terapêutica; ed. by A.G. Gilman et al. 8.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1991. 1232p.

37. GREEN, C.D. Strain sensitivity of rats to nitrous oxide. Anesth. Analg. curr. Res., Elmira, v.47, n.5, p. 509-514, Sept./Oct. 1968.
38. GREEN, H.D., BLUMBERG, J.B. The use of a synthetic analogue of posthypophysial vasopressin (PVL-2) for local hemostasis. Surgery, Saint Louis, v.58, n.3, p.524-529, 1965.
39. GUHL, V. Die antidiuretische und pressorische wirksamkeit von arginin<sup>8</sup>-vasopressin, lysin<sup>8</sup>-vasopressin und phenylalanin<sup>2</sup>-lysin<sup>8</sup>-vasopressin beim menschen. Schweiz. med. Wschr., Basel, v.91, p.798, 1961. Apud LIGHT, G.A., RATTENBORG, C., HOLADAY, D.A. op. cit. Ref.58.
40. HARNISCH, H. Das lokalanästhetikum hostacain in experiment und klinik. Dt. Zahnärztl. Z., München, v.8, p. 1224-1233, 1953.
41. HENN, F. Determination of the toxicological and pharmacological properties of carbocaine, lidocaine and procaine by means of simultaneous experiments. Acta anaesth. scand., Aarhus, v.4, p.125-154, 1960.
42. HIROTA, Y., et al. An echocardiographic study of patients with cardiovascular disease during dental treatment using local anesthesia. J. oral maxillofac. Surg., Duluth, v.44, p.116-121, 1986.
43. HOLLER, W. Die toxität einiger lokalanästhetika und ihre beeinflussung durch vasokonstringentien. Dt. Zahnärztl. Z., München, v.7, p.1198-1204, 1952.

44. HUOBER, G. Sugli effetti cardio-circolatori delle soluzioni anestetiche con vasocostrittore nell'anestesia per chirurgia odonto-stomatologica - contributo sperimentale. Riv. ital. Stomat., Parmz, v.24, n.12, p.1345-1356, 1969.
45. IVERSEN, L.L. The uptake and storage of noradrenaline in sympathetic nerves. Londres, Cambridge University Press, 1967. Apud GERKE, D.C., FREWIN, D.B., FROST, B.R. op. cit. Ref. 31.
46. JASTAK, J.T., YAGIELA, J.A. Vasoconstrictors and local anesthesia: a review and rationale for use. J. Am. dent. Ass., Chicago, v.107, p.623-630, Oct. 1983.
47. JONG, R.H., BONIN, J.D. Mixtures of local anesthetics are no more toxic than the parent drugs. Anesthesiology, Lancaster, v.54, n.3, p.177-181, Mar. 1981.
48. \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_. Toxicity of local anesthetic mixtures. Toxic. appl. Pharmac., San Diego, v. 54, n.3, p.501-507, 1980.
49. KATZ, R.L. Epinephrine and PLV-2: cardiac rhythm and local vasoconstrictor effects. Anesthesiology, Lancaster, v.26, n.5, p.619-623, Sept./Oct. 1965.
50. KEENAGHAN, J.B., BOYES, R.N. The tissue distribution, metabolism and excretion of lidocaine in rats, guinea pigs and man. J. Pharmac. exp. Ther., Baltimore, v.180, n.2, p.454-463, Feb. 1972.
51. KEESLING, G.R., HINDS, E.C. Optimal concentration of epinephrine in lidocaine solutions. J. Am. dent. Ass., Chicago, v.66, p.337-340, Mar. 1963.

52. KEPINOW, D. Über den synergismus von hypophysisextrakt und adrenalin. Arch. exp. Path. Pharmak., Leipzig, v.67, p.247-274, 1912. Apud BARTELSTONE, H.J., NASMYTH, P.A. op. cit. Ref. 12.
53. KLINGENSTRÖM, P., WESTERMARK, L. Local effects of adrenaline and phenylalanyl-lysyl-vasopressin in local anaesthesia. Acta anaesth. scand., Aarhus, v.7, p.131-137, 1963.
54. \_\_\_\_\_, NYLÉN, B., WESTERMARK, L. A clinical comparison between adrenaline and octapressin as vasoconstrictors in local anaesthesia. Acta anaesth. scand., Aarhus, v.11, p.35-42, 1967.
55. KNOLL-KÖHLER, E., FÖRTSCH, G. Pulpal anesthesia dependent on epinephrine dose in 2% lidocaine. O. Surg., Saint Louis, v.73, n.5, p.537-540, 1992.
56. KOELZER, P.P., WEHR, K.H. Beziehungen zwischen chemischer konstitution und pharmakologischer wirkung bei mehreren klassen neuer lokalanästhetica. Arzneimittel-Forsch., v.9, p.683, 1959. Apud HENN, F. op. cit. Ref. 41.
57. LAWLEES, J.F. Statistical models and methods for lifetime data. New York: John Wiley & Sons, 1982. 579p.
58. LIGHT, G.A., RATTENBORG, C., HOLADAY, D.A. A new vasoconstrictor-preliminary studies of phelypressin. Anesth. Analg., New York, v.44, n.3, p.280-287, May/June, 1965.
59. LILIENTHAL, B. Cardiovascular responses to intraosseous injections of prilocaine containing vasoconstrictors. Oral Surg., Saint Louis, v.42, n.5, p.552-558, 1976.

60. LILIENTHAL, B., REYNOLDS, A.K. Cardiovascular responses to intraosseous injections containing catecholamines. Oral Surg., Saint Louis, v.40, n.5, p.574-583, Nov. 1975.
61. LINDORF, H.H. Investigation of the vascular effect of newer local anesthetic and vasoconstrictors. Oral Surg., Saint Louis, v.48, n.4, p.292-297, 1979.
62. LONGO, L.D., et al. Hemodynamic and renal effects of octapressin. Proc. Soc. exp. Biol. Med., Baltimore, v.115, p.766-770, Mar. 1964.
63. McCULLAGH, P., NELDER, J.A. Generalized linear models. 2.ed. Londres: Chapman and Hall, 1989. 511p
64. MALAMED, S.F. Manual de anestesia local. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 225p.
65. MAXWELL, G.M. The cardiovascular effects of octapressin. Archs int. Pharmacodyn. Thér., Bruxelles, v.158, p.17-23, 1965.
66. MEYER, F.-U. Hemodynamic changes of local dental anesthesia in normotensive and hypertensive subjects. Int. J. clin. Pharmac. ther. tox., Deisenhofen, v.24, n.9, p.477-481, 1986.
67. MEYER, R., ALLEN, G.D. Blood volume studies in oral surgery: I. Operative and postoperative blood losses in relation to vasoconstrictors. J. oral Surg., Chicago, v.26, n.11, p.721-726, Nov. 1968.

68. MILLER, L.C., TAINTER, M.L. Estimation of the  $ED_{50}$  and its error by means of a logarithmic-probit graph paper. Proc. Soc. exp. Biol. Med., Baltimore, v.57, p.261-264, 1944. Apud ÅKERMAN, B. op. cit. Ref. 5.
69. MOORE, P.A. Circadian variations in the convulsant response and pharmacokinetics of lidocaine. Thesis, University of Pittsburgh, 1977. Apud JONG, R.H., BONIN, J.D. op. cit. Ref. 48.
70. MORGAN, B.J.T. Analysis of quantal response data. Monographs on statistics and applied probability 46. Londres: Chapman and Hall, 1992. 511p.
71. NASH, C.B., BOYAJY, L.D., MANLEY, E.S. Vasopressin antagonism of adrenergic vasodilation. Archs int. Pharmacodyn. Thér., Bruxelles, v.133, p.433-443, 1961.
72. NEWCOMB, G.M., WAITE, I.M. The effectiveness of two local analgesic preparations in reducing haemorrhage during periodontal surgery. J. Dent., Bristol, v.1, n.1, p.37-42, 1972.
73. NIEF, L. Existe-t-il des avantages à associer deux vaso-constricteurs adrénaline et noradrénaline dans certains anesthésiques dentaires? Inf. dent., Paris, v.56, n.38, p.35-38, sept. 1974.
74. OLGART, L., GAZELIUS, B. Effects of adrenaline and felypressin (octapessin) on blood flow and sensory nerve activity in the tooth. Acta odont. scand., Oslo, v.35, p.69-75, 1977.
75. PAYNE, C.D. The GLIM system release 3.77 manual. Oxford: Numerical Algorithms Group, 1986. 3 v.

76. PERSSON, G. Ornithine<sup>R</sup>-vasopressin (POR-8) as a vasoconstrictor in anesthetics used for ordinary dental treatment. Scand. J. dent. Res., Copenhagen, v. 79, p.441-448, 1971.
77. PIPERNO, S., KAIM, J. Epinephrine in local anesthesia - effect on the blood pressure of normotensive patients. N. Y. S. dent. J., New York, v.47, p.392-394, Aug./Sept. 1981.
78. RANALI, J. Avaliação clínica da bupivacaína a 0,25%, combinada com a associação de adrenalina e felipressina e comparada à bupivacaína a 0,5% com adrenalina, em cirurgias de terceiros molares inferiores inclusos. Tese (Livre-Docência em Ciências, Área de Farmacologia) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 1990. 98p.
79. \_\_\_\_\_, et al. Avaliação dos efeitos da associação de adrenalina e felipressina à bupivacaína sobre a pressão arterial de cães. Folha med., Rio de Janeiro, v.105, n.1, p.7-11, 1992.
80. RIBOT, S., et al. Cardiovascular effects of phenylalanyl-2-lysyl-8 vasopressin (PLV-2). Am. J. med. Sci., Philadelphia, v.246, p.479-484, 1963.
81. ROBERTS, D.H., SOWRAY, J.H. Analgesia local em odontologia. 3.ed. São Paulo: Ed. Santos, 1995. cap.4. p.19-36.
82. ROSALEN, P.L., et al. Toxicidade aguda oral do NaF e Na<sub>2</sub>PO<sub>3</sub>F em ratos - valor da DL<sub>50</sub>. Anais Soc. bras. Pesqs. odont., São Paulo, v.8, p.60, 1992.
83. SHERMAN, H. Comparative profiles of various strains of rats used in long-term feeding studies. Lab. Anim. Care, Cordova, v.13, n.6, p.793-807, 1963.

84. SIEGEL, R.J., VISTNES, L.M. Epinephrine requirements for effective hemostasis in local anesthetics. Surg. Forum, Philadelphia, v.23, p.514-516, 1972.
85. STAVRAKY, G.W., OLIVER, R.J. Influence of the posterior pituitary on the pressor action of epinephrine. Fedn Proc., Bethesda, v.11, p.392-393, Mar. 1952.
86. SVEEN, K. Effect of the addition of a vasoconstrictor to local anesthetic solution on operative and postoperative bleeding, analgesia and wound healing. Int. J. oral Surg., Copenhagen, v.8, p.301-306, 1979. Apud CASSIDY, J.P., PHERO, J.C., GRAU, W.H. op. cit. Ref. 20.
87. TAYLOR, S.E., DORRIS, R.L. Modification of local anesthetic toxicity by vasoconstrictors. Anesth. Prog., Chicago, v.36, n.3, p.79-87, May/June, 1989.
88. TRUANT, A.P. Studies on the pharmacology of meprylcaine (oracaine), a local anesthetic. Archs int. Pharmacodyn. Thé., Bruxelles, v.115, n.4, p.483-497, 1958.
89. WATERSON, J.G. Interactions of adrenaline and POR-8 in vascular smooth muscle. J. dent. Res., Washington, v.53, n.3, p.705, 1974.
90. \_\_\_\_\_. Potentiation of vascular responses to catecholamines by POR-8. J. dent. Res., Washington, v.54, p.B63-B67, 1975. [Special Issue].
91. \_\_\_\_\_. Vasoconstriction by ornithine vasopressin in the rabbit ear. J. dent. Res., Washington, v.49, n.3, p.659, May/June, 1970.
92. \_\_\_\_\_, HUME, W.R. Interactions of norepinephrine and POR-8. J. dent. Res., Washington, v.52, n.3, p.575-576, May/June, 1973.



93. YAGIELA, J.A. Intravascular lidocaine toxicity: influence of epinephrine and route of administration. Anesth. Prog., Chicago, v.32, n.2, p.57-61, Mar./Apr. 1985.
94. \_\_\_\_\_, MADSEN, W.C. Mechanism of enhancement of lidocaine toxicity by epinephrine. J. dent. Res., Washington, v.61, p.275, 1982.
95. ZANINI, A.C., OGA, S. Farmacologia aplicada. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1989. cap.8. p.87-96.