CÉLIO PEREIRA BASTOS

Contribuição ao estudo da Anestesia Parcial: Método para a quantificação da influência de Vasoconstritores (Adrenalina e Felilpressina) na anestesia causada pela Prilocaína no dorso do Cobaio

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, para a obtenção do grau de mestre em Farmacologia Aplicada à Clínica Odontológica

PIRACICABA 1.980

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Ofereço este trabalho

à minha mulher, *Noemy*, exemplo de dedicação e inestimável apoio afetivo e também científico ...

aos meus filhos,

Mirian,
Marden e
Endrigo

estímulo maior de todo meu esforço.

Ofereço ainda este trabalho

aos meus familiares que com sua compreensão, estímulo e amor, tornaram possível a conclusão de meu curso de Mestrado e a elaboração desta tese:

aos meus pais,
Antonio e *Cecília* ...

aos meus irmãos e cunhados,
Wilma e *Armando*,
Saulo e *Elimar*,
Lourdinha e *Glenan*,
Marina e *Luiz Fernando*,
Marilene e *Antonio Carlos*,
Maria Elisa e *Antonio*,
João Francisco e *Clarice* ...

aos meus sogros e segundos pais,
Joaquim e *Bem* ...

aos meus cunhados e concunhados,
Jairo e *Rosângela*,
Maria do Rosário e *Antonio*,
Darcila e *Marcos Antonio*,
Maria Helena.

In memorian ...

do Professor Doutor *Lamartine de Barros Duarte*, ex-diretor da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, admirável administrador, que sempre lutou pelos objetivos desta Escola, acreditando que a Universidade, como uma colmêia, só se realiza com o trabalho de todos.

Minha mais sincera homenagem,

ao Comendador Professor Doutor *João Baptista Pereira Bastos*, pelo exemplo de fibra e entusiasmo contagiante, espírito de luta indomável, e velado amor à Odontologia, que o tempo cada vez mais vivificam.

Agradeço de modo muito especial,

ao Professor *Thales Rocha de Mattos Filho*, verdadeiro professor, que a simplicidade não consegue esconder, pela força e compreensão de sempre, e pela decisiva participação em minha iniciação científica.

Compartilho este trabalho

com o Doutor *Antonio Carlos Neder*, pela orientação ...

com o Doutor *Armando Octávio Ramos*, pela ajuda efetiva na sua elaboração ...

com a Doutora *Wilma Pereira Bastos Ramos*, pelo incentivo e coragem que me deu ...

com a Doutora *Maria Noemy de Oliveira Bastos*, pelo auxílio no entendimento dos problemas relacionados à química das drogas utilizadas, e na elaboração das soluções anestésicas utilizadas neste trabalho ...

com a Doutora *Marilene Pereira Bastos Geneviva*, pelo auxílio na organização dos dados ...

com a Doutora *Ana Maria Duarte Dias Costa*, pela ajuda na discussão e entendimento dos eventos experimentais.

Agradeço

à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, representada por sua direção, professores e funcionários, pelo amparo, formação e auxílio que me ofereceram em dois anos de trabalho em comum ...

ao Instituto Básico de Biologia Médica e Agrícola de Botucatu (UNESP), representado por sua direção e professores do Curso de Pós-graduação, pela minha formação em Farmacologia Básica ...

à Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, representada por diversos setores de sua direção, pela permissão concedida para me ausentar durante o Curso de Mestrado; pelos professores e funcionários da Clínica Integrada, que se desdobraram para assumir o meu trabalho, enquanto ausente...

ao Doutor *Samir Taufic Arbex*, pela assistência fiduciária durante a minha permanência em Piracicaba.

à Senhora *Ivonete Aparecida Dorini de Aguiar e Silva*, pelo impecável e artístico trabalho datilográfico ...

à Senhorita *Nádia Jovêncio*, pela correção ortográfica ...

ao Senhor *Antonio Aparecido Martins*, pelo auxílio técnico na elaboração dos esquemas e gráficos ...

ao Senhor *Modesto Bovolenta*, pela cessão do lote de animais padronizados ...

à Senhorita *Denira de Carvalho*, pelo zelo na manutenção do biotério ...

à Coordenação de Aperfeiçoamento e Pesquisa de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo durante a realização do Curso de Pós-graduação ...

à Astra Química do Brasil, pela cessão do Citanest e do Octapressin, utilizados neste experimento.

C O N T E Ú D O

I - INTRODUÇÃO 1

II - MATERIAL E MÉTODOS 18

1 - ANIMAIS UTILIZADOS 18
2 - DROGAS E SOLUÇÕES - GRUPOS EXPERIMENTAIS 18
3 - DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL 23
4 - MÉTODOS DE AVALIAÇÃO 40

III - RESULTADOS 44

1 - PRIMEIRO ESTUDO - REPRODUTIBILIDADE 44
2 - SEGUNDO ESTUDO - PRECISÃO 56
3 - TERCEIRO ESTUDO - FIDEDIGNIDADE 58

IV - DISCUSSÃO 64

V - RESUMO E CONCLUSÕES 71

VI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 75

I - INTRODUÇÃO

A anestesia parcial sempre teve o seu desenvolvimento ligado à odontologia, sendo, neste ramo de atividade, o único meio de rotina disponível para o controle da dor transoperatória.

Embora considerável progresso possa ser observado nos anestésicos locais, em termos de efetividade e redução da toxicidade, muitos problemas de ordem teórica, experimental e terapêutica continuam à espera de solução:

A - A falta de conhecimento dos precisos mecanismos de ação dos agentes anestésicos e vasoconstritores, associados ou não, sobre as estruturas biológicas.

Embora a composição química e a configuração molecular dessas drogas sejam bem conhecidas, podendo ser alteradas por processos químicos a fim de se obter ou eliminar, acentuar ou reduzir um certo efeito, sabe-se menos que o necessário sobre a biofase, no que se refere ao aspecto necessário para o estabelecimento das relações estrutura-atividade. Assim, conhece-se o local e o modo, mas não os mecanismos de ação.

B - O maior problema experimental parece ser a escassez de métodos de pesquisa padronizados e econômicos, capazes de oferecer resultados sempre reprodutíveis, sem discrepâncias maiores que as já esperadas, causadas

pela variação própria do material biológico, atribuindo, até certo ponto, um caráter unitário a cada experimento. Os dados quali-quantitativos obtidos de diversos experimentos, são assim freqüentemente discordantes, o que dificulta uma correlação no sentido de formar-se um consenso geral, baseado mais na realidade científica do que em interpretações e inferências pessoais.

Qualitativamente, em experimentos, tanto de laboratório, com diversas espécies animais (em animal inteiro ou órgãos isolados), quanto clínicos, em pacientes humanos, as respostas são semelhantes. Quantitativamente, entretanto, essas respostas podem ser inteiramente diferentes segundo o método utilizado, ou até com pequenas variações no mesmo método. Sendo assim, duas ou mais soluções anestésicas não podem ser comparadas com precisão, a menos que tenham sido testadas pelo mesmo método e pelo mesmo experimentador.

C - Quanto à utilização terapêutica em odontologia, se o objetivo da anestesia parcial for simplesmente suprimir a dor transoperatória em um procedimento cuja duração possa ser coberta por uma única injeção, em um paciente íntegro física e psiquicamente, pode-se considerar como satisfatórias todas as soluções anestésicas comerciais disponíveis. Fora dessas condições, no entanto, o que ocorre com assídua freqüência, essas mesmas soluções são potencialmente ineficazes ou inseguras, quer pela falha na obtenção de um ou mais efeitos desejados com a intensidade e duração necessárias, quer pelo aparecimento de efeitos

locais, orgânicos ou psíquicos inconvenientes.

Apesar da insistente procura pela ciência, da solução anestésica ideal, até o momento, nenhuma ainda conseguiu proporcionar o controle, em níveis ótimos segundo as múltiplas necessidades terapêuticas, das particularidades de ação próprias desse tipo de medicação, com um mínimo de toxicidade, enquanto esta não puder ser inteiramente abolida.

Anestésicos locais são medicamentos que bloqueiam, de modo reversível, a recepção de estímulos e a condução de impulsos nervosos, quando aplicados localmente em tecido nervoso, na concentração apropriada (GOODMAN & GILMAN, 1978).

Todos os tipos de condução nervosa são bloqueados pelos anestésicos locais, dependendo da susceptibilidade da fibra nervosa e da concentração da base livre em contacto com o tronco nervoso.

A diferença de sensibilidade de diversos tipos de fibra nervosa à ação do anestésico tem sido observada experimental e clinicamente. Essas diferenças são devidas, principalmente, ao diâmetro da fibra (GASSER & ERLANDER, 1929), embora a existência e espessura da bainha de mielina também tenham participação (KATO, 1936).

O tempo requerido para a indução de bloqueio nervoso (período de latência) varia inversamente com a concentração da base anestésica livre e, diretamente com o quadrado do raio do nervo (ERHENBERG, 1948).

Essas diferenças de susceptibilidade são de

grande importância prática, por estabelecerem uma ordem definida do modo como as funções sensitivas de vários tipos de fibra de um tronco nervoso são afetadas (GOODMAN & GILMAN, 1978). Embora ainda discutida essa ordem, está estabelecido que a primeira sensação a desaparecer é a dolorosa, e as últimas, a proprioceptiva e a motora (NEDER, 1976).

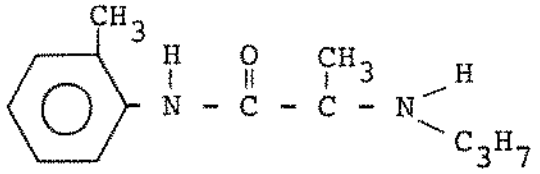
Muitos compostos, pertencentes a diversos grupos químicos e com diferentes ações farmacológicas principais, como antihistamínicos, analgésicos, ataráxicos e antiarrítmicos são capazes de provocar, como efeito secundário, o tipo de bloqueio reversível referido como anestesia local (HIRSCHFELDER & BIETER, 1932; BARLOW, 1955; BENNET, 1974), evidenciando que essa habilidade não é dependente de uma particular configuração molecular (ADRIANI, 1960). Entretanto, as substâncias classificadas como anestésicos locais injetáveis e que são adequadas à utilização terapêutica são, sem exceção, aminas (BARLOW, 1955), com uma estrutura fundamental comum. Essa estrutura (ZANINI & OGA, 1979) é composta de: a) um anel aromático (parte lipofílica); b) uma cadeia alifática intermediária tipo éster ou amida; c) uma amina secundária ou terciária (parte hidrofílica).

O balanço entre a hidrofilia e a lipofilia é fator importante para a atividade anestésica, pois são essas propriedades que tornam possíveis, a difusão através dos tecidos, e a penetração e migração da base livre dentro da fibra nervosa (TAINTER, 1941; FOLDES, et alii, 1956).

Respeitada a estrutura fundamental, qualquer modificação em qualquer ponto da molécula, muda o po

tencial anestésico e a toxicidade (GOODMAN & GILMAN, 1978).

Os anestésicos locais são bases fracas, instáveis e pouco solúveis em água, com a qual formam soluções alcalinas (TAINTER, 1941), com pH entre 7 e 9 (COHEN & KNIGHT, 1947):



= A≡N (I)

Base Anestésica Livre (Prilocaína)

Reagindo com ácidos fortes, geralmente o clorídrico, formam sais (cloridratos):

$$A \equiv N + HCl \longrightarrow A \equiv N.HCl \qquad (II)$$

Base + ácido ⟶ sal ácido

O sal ácido assim obtido, é muito solúvel, formando com a água soluções iônicas estáveis, de natureza ácida, com pH entre 4 e 7, dependendo da base e do ácido utilizados para formar o sal (ADRIANI, 1955):

$$A \equiv N.HCl \xrightleftharpoons{\text{água}} A \equiv N.H^{+} + Cl^{-} \qquad (III)$$

Cloridrato ⟷ cátion + anion

Essa é a forma do anestésico utilizável como medicamento.

No interior dos tecidos normais, o pH da solução é prontamente equiparado ao dos tecidos pela ação tamponante dos líquidos tissulares, e então o cátion libera a base livre (I), que é a forma ativa do anestésico local:

$$A \equiv N.H^{+} + H_2O \rightleftharpoons A \equiv N + H_3O^{+} \qquad (IV)$$

Do equilíbrio entre as formas catiônica ($A \equiv N.H^{+}$) e molecular ($A \equiv N$), dependerão: a) a difusão através dos tecidos, dependente da hidrossolubilidade, conferida pela forma catiônica; b) a penetração nos tecidos nervosos, dependente da lipossolubilidade, conferida pela forma molecular.

Quando o anestésico é injetado em áreas onde o pH se encontra abaixo do normal, devido à presença de inflamações no local, ou doenças que provocam a queda do pH, o equilíbrio pode sofrer um deslocamento à esquerda, ficando a base livre em concentração insuficiente para promover a anestesia (NEDER & ARRUDA, 1977). Teoricamente, a utilização de uma solução alcalina proporcionaria melhor efetividade, por não depender do tampão biológico. Alguns autores conceituados (HIRSCHFELDER & BIETER, 1932), afirmam ser essa crença incorreta ou que "testes objetivos não conseguiram evidenciar essa hipótese" (GOODMAN & GILMAN, 1978). Por outro lado, autores como BROSA (1975), afirmam o contrário. NEDER & GAMA (1976), utilizando solução anestésica de lidocaína com pH 7,4, conseguiram demonstrar um aumento no limiar de excitabilidade, por estimulação elétrica, em dorso de cobaios portadores de abcesso dorsal.

Embora a potência e duração de ação sejam características importantes, a validade de uma droga anestésica local é decidida pela sua toxicidade local ou geral (ADRIANI, 1960), que depende, entre outros fatores, da velocidade de absorção e biotransformação. O nível sanguíneo atingido durante um bloqueio regional é reduzido (AUERBACH et alii, 1952; EVEN et alii, 1953), mas, em certas condições, o anestésico pode ganhar acesso à corrente sanguínea em quantidades significantes (EGGLESTON et alii, 1919), causando efeitos gerais indesejáveis, principalmente sobre o sistema cardiovascular e sistema nervoso central (KNÖEFEL et alii, 1930; WOLLENBERGER, 1948; STEINHAUS, 1952; SADOVE, 1952).

Em odontologia, a maior causa de sobredosagem é a injeção intravascular acidental, não prevenida pela aspiração antes da injeção, que tem sido responsabilizada por inúmeros casos de reações tóxicas de gravidade variável (MOORE, 1955; SELDIN & RECANT, 1955; HARRIS, 1957; AMERICAN DENTAL ASSOCIATION-COUNCIL ON DENTAL THERAPEUTICS, 1962; BARTLET, 1972; TOMLIN, 1974a e b).

Os anestésicos locais injetáveis são sempre utilizados em solução salina isotônica que, mais que simples veículos do agente anestésico, ainda conduzem agentes conservantes, estabilizantes, além dos vasoconstritores, que visam torná-la mais efetiva e adequada à utilização terapêutica.

A descoberta por BRAUN, em 1903, de que a adrenalina retardava a absorção da cocaína, tornando-a ao mesmo tempo menos tóxica e mais efetiva pelo uso de doses menores, foi o evento que deu início à associação anestê-

sico local-vasoconstritor.

Com poucas exceções, os anestésicos locais têm ação vasodilatadora (BEUTNER, 1948), acelerando a absorção, e, em conseqüência, aumentando o risco de efeitos tóxicos gerais, além de reduzir a duração de ação. Esse efeito farmacológico pode ser invertido pela adição de substâncias vasoconstritoras às soluções anestésicas, que restringem a circulação sanguínea no local. Mantém-se assim, por mais tempo, a concentração efetiva do anestésico, aumentando sua potência e duração de ação (ALBERT & LÖFSTRÖM, 1965; BROWN, 1968).

Outra vantagem dos vasoconstritores é a redução da hemorragia transoperatória durante a cirurgia oral ou periodontal (CURTIS et alii, 1966; HALSE, 1970).

Após a descoberta da procaína por EINHORN, em 1905, verificou-se que, embora muitas vezes menos tóxica que a cocaína, necessitava também de concentrações muito maiores de adrenalina. Os inúmeros acidentes atribuídos à adrenalina, foram a causa da longa controvérsia que se prolongou por muitos anos, e, ainda hoje, parece não estar resolvida. A literatura pertinente é vasta e controvertida, com argumentos convincentes de ambas as partes.

Procurando evitar os efeitos gerais potencialmente perigosos da adrenalina, foram introduzidas, e são até hoje utilizadas, outras drogas simpaticomiméticas como vasoconstritoras: noradrenalina, fenilefrina, cobefrin e neocobefrin. Esses agentes entretanto, sendo menos potentes, necessitam de doses equiefetivas proporcionalmente maiores, cujos efeitos indesejáveis se contra-

põem às vantagens que possam oferecer.

Com a descoberta dos polipeptídeos sintéticos com seletiva ação vasopressora, obtidos a partir da substituição de aminoácidos na molécula da vasopressina - (BERDE et alii, 1964; WALTHER et alii, 1967), apareceram alternativas promissoras para substituir os vasoconstritores tipo catecolamina, em pacientes nos quais estes são contraindicados (PETERSEN et alii, 1977).

Os anestésicos locais e os vasoconstritores, associados à solução anestésica, manifestam suas ações farmacológicas de modo semelhante, marcadas, porém, por diferenças determinadas, principalmente, pela sua estrutura química e pela proporção de suas concentrações. Essas diferenças, consideradas parâmetros de efetividade clínica, residem: a) no espaço de tempo entre a administração e o bloqueio sensitivo (latência); b) na difusão através dos tecidos circunvizinhos (extensão); c) na força das respostas fisiológicas locais (intensidade); d) no tempo em que perduram os efeitos (duração); e) na constrição ou relaxamento dos vasos sanguíneos (vasoatividade); f) nas manifestações tóxicas locais (citotoxicidade); g) nas manifestações tóxicas gerais (toxicidade geral).

Tanto em pesquisas clínicas como laboratoriais, intensidade, duração e toxicidade geral, são os parâmetros comumente utilizados, tanto na determinação qualitativa como quantitativa, das concentrações e quantidades de anestésicos e vasoconstritores mais adequados à utilização clínica. Neste trabalho, os dois primeiros, serão os parâmetros estudados.

A intensidade da anestesia é mais dependente do tipo e concentração do agente anestésico (BENNET, 1974), enquanto a duração de efeitos é mais influenciada pelo tipo e concentração do vasoconstritor (LUDUENA, 1969).

Em misturas de anestésicos e vasoconstritores, a relação entre suas concentrações e a intensidade e duração da anestesia não é clara (LUDUENA, 1969). Diversos autores têm demonstrado que há uma correlação linear entre a duração e intensidade da anestesia e o logaritmo da concentração do anestésico (SINHA, 1939; LESER, 1950), enquanto em outros trabalhos (LUDUENA, 1960), demonstrou-se nenhuma ou insignificante diferença.

Quando se mantém constante a concentração do anestésico, há uma correlação linear entre a concentração do vasoconstritor e a duração da anestesia (SINHA, 1939).

A determinação das concentrações ótimas dos agentes anestésicos e vasoconstritores é crítica. O efeito vasodilatador do anestésico se eleva com o aumento da concentração do anestésico, e deve ser compensado por maiores concentrações do vasoconstritor (GOLDMAN, 1969).

GOLDMAN et alii (1966), estudando o intrincado balanço entre a vasoconstrição e a vasodilatação, produzido por misturas de anestésicos e vasoconstritores, demonstraram que o tempo de latência para a instalação do efeito vasoconstritor varia com o anestésico e o vasoconstritor utilizado, não sendo possível o estabelecimento de uma relação linear com todos os vasoconstritores testados.

Diversos métodos têm sido propostos para testar a anestesia local em animais de laboratório. Considerando-se o alto interesse prático que cerca esse tipo de medicação, é inegável que o objetivo da sintetização e do teste num grande número de anestésicos, em combinações as mais variadas com vasoconstritores, é a utilização clínica em pacientes humanos. Embora certos parâmetros de atividade só possam ser testados em animais, outros podem sê-lo, também, no homem, mas muitas vezes com limitações de ordem ética e humana.

Em animais, onde a única preocupação é verificar, qualitativa e quantitativamente, determinado efeito, há liberdade ilimitada por parte do experimentador, quanto aos tipos, concentrações e quantidades de anestésico e vasoconstritor que deseja testar. Isto faz com que a anestesia experimental em animais de laboratório mantenha elevado interesse científico.

O método conhecido por "método do botão", em dorso de cobaio, essencialmente quantitativo, introduzido por ROSE, em 1929, é de realização simples e econômica, prescindindo de aparelhagem sofisticada. Esse método vem sofrendo sucessivas alterações, pois desde a sua concepção, nunca foi geralmente reconhecido como um método preciso e reprodutível. Apesar das restrições que vem sofrendo, continua a ser utilizado, mais,talvez, pelas vantagens referidas acima.

McINTYRE & SIEVERS (1937), afirmaram que nesse método, pequenas variações no modo de aplicação podem alterar profundamente os resultados. Sugeriram, ain-

da, que, informações precisas, a respeito das precauções particulares, devem ser colhidas para obter-se bom nível de reprodutibilidade e precisão; nessa pesquisa, dispensaram especiais cuidados ao modo de aplicar-se as injeções, e à estimulação mecânica, mas mesmo assim, a variabilidade das respostas foi excessiva.

SIEVERS & McINTYRE (1938), em outra pesquisa, procurando melhorar o método, testaram em cada animal, uma solução experimental e um controle, mas ainda assim, a variabilidade foi maior que a esperada.

Diversos autores (RIDER, 1930; SINHA, 1936; SINHA, 1939), referem-se ao método como valioso para testar a atividade anestésica, mas em seus trabalhos não o utilizaram.

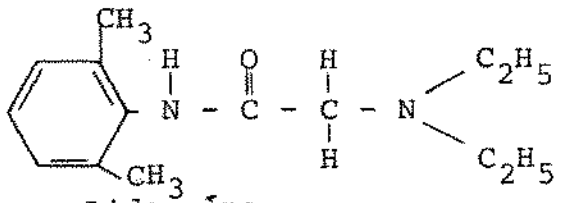
CHANCE & LOBSTEIN (1944), qualificaram o método como "o menos satisfatório" por diversos motivos, entre os quais, a variabilidade do estímulo e a resposta indefinida do cobaio. Esses autores no entanto, embora em outro tipo de método (anestesia tópica em córnea de cobaio), introduziram o método de "testes de 6 pontos", de grande utilidade sob o ponto de vista estatístico, para reduzir o erro-padrão pelo aumento do número de observações num mesmo experimento. Esse método de avaliação foi posteriormente adaptado (BÜLBRING & WAJDA, 1945) para a verificação da duração e intensidade da anestesia em dorso de cobaio: seis estímulos mecânicos eram aplicados em determinada área, anestesiada pela solução-teste, a cada cinco minutos durante 30 minutos, somando-se o número de estímulos sem resposta.

A soma de pontos insensíveis oferecia um valor que, por comparação ao valor máximo possível, de 36 (efeito máximo num tempo padrão), dava uma idéia do grau de anestesia. Entretanto, ultrapassado o valor máximo, nenhuma medida podia ser feita.

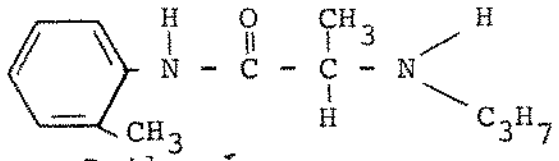
Apesar do aperfeiçoamento introduzido por esse método, e as diversas modificações introduzidas posteriormente, o problema da variabilidade e falta de reprodutibilidade persistiu, constantemente na literatura, quando o mesmo foi utilizado.

A prilocaína, anestésico local utilizado neste experimento, foi inicialmente conhecida por por "L-67", e agora por propitocaína ou CITANEST^{R}, nome comercial registrado pela Astra Química, seu único fabricante.

Quimicamente, se relaciona à lidocaína, considerada padrão do grupo amida:



Lidocaína



Prilocaína

N-(2-metilfenil)-2-(propilamino)-propanamida

A solução comercial (CITANEST com OCTAPRESSIN^{R}), tem pH 4,6, resistindo bem a uma autoclavagem sem

se alterar.

A efetividade e a toxicidade da prilocaína tem sido estudada por diversos autores (GOLDMAN & GRAY, 1963; COWAN, 1965; GANGAROSA & HALIK, 1967; BROWN, 1968; EPSTEIN, 1969; CHILTON, 1971; NEDER, 1976; PETERSEN et alii, 1977).

Em efetividade, se compara à lidocaína, podendo ser utilizada mesmo sem vasoconstritor, na concentração de 4 por cento (CHILTON & TRENTON, 1971), pois não tem ação vasodilatadora; embora a incidência de dor inicial e potência de bloqueio mostrem-se clinicamente aceitáveis, a duração é curta.

Em combinação com vasoconstritores, comporta-se de modo diferente quanto à duração, segundo o tipo e concentração do vasoconstritor: exige concentrações muito baixas de adrenalina, 1:300.000 a 1:200.000 (3,33 a 5 µg/ml) para se tornar efetiva, o mesmo ocorrendo com a felilpressina, onde doses tão pequenas como 0,03 UI/ml* (0,54 µg/ml) elevam ao máximo sua efetividade. Contudo, não se obtém uma relação linear entre a duração e a concentração de nenhum dos vasoconstritores aqui considerados (GOLDMAN et alii, 1967).

A duração apresenta ainda inconveniente de ser excessiva nos tecidos moles, quando associada à felipressina, não sendo, entretanto, acompanhada pela anestesia pulpar (PETERSEN et alii, 1977).

---

* UI = Unidade Internacional, convencionada para a vasopressina e derivados, equivalendo a 0,018 mg/ml.

Sua toxicidade é aproximadamente 60 por cento da observada com a lidocaína, embora apresente o inconveniente de provocar metahemoglobinemia (GOODMAN & GILMAN, 1978).

A 2-(fenilanina)-8-lisinavasopressina ou felilpressina (OCTAPRESSIN^{R}) é um vasoconstritor de uso recente, não relacionado quimicamente às catecolaminas.

Sua síntese foi obtida por JAQUENOUD & BOISSONAS (1959), substituindo-se a tirosina na posição 2 pela fenilalanina, a partir da molécula da vasopressina.

O efeito vasoconstritor que provoca é menor, porém mais prolongado que o da adrenalina (AKERMAN, 1966), possuindo marcado efeito constritor sobre a microcirculação (ALTURA et alii, 1965; BERLING, 1966).

Parece evidente que a felilpressina, assim como outros vasoconstritores derivados da vasopressina (SANDOZ LABORATORIES, 1965; WATERSON, 1970), tem ação predominante sobre o lado venoso da microcirculação, enquanto a adrenalina age predominantemente sobre a circulação arterial. Isto pode explicar porque o efeito vasoconstritor da felilpressina não é capaz de conter a hemorragia capilar, sendo por este motivo inconveniente em procedimentos cirúrgicos que exigem um campo limpo de sangue (PERSSON et alii, 1969).

A isquemia produzida pela felilpressina não é seguida de hipóxia e cianose locais, observadas com a adrenalina (KLINGENSTRÖM & WESTERMARK, 1964). Durante a recuperação do efeito vasoconstritor não há vasodilatação como ocorre com a adrenalina (KLINGENSTRÖM & WESTERMARK, 1964), e isto pode se refletir no pós-operatório, com menor incidência de hemorragia secundária.

O que faz esse vasoconstritor destacar-se dos até então conhecidos, é o alto grau de segurança que oferece, podendo ser utilizado em pacientes nos quais a adrenalina e correlatos são contraindicados: a) pacientes submetidos a medicação com tricíclicos antidepressivos e inibidores da MAO; b) pacientes sob anestesia geral com gases halogenados; c) pacientes diabéticos, hipertiroideos e hipertensos.

No Brasil, a prilocaína é disponível comercialmente sob duas formas:

(I) - solução a 3 por cento com felilpressina a 0,03 UI/ml (CITANEST com OCTAPRESSIN^{R}).

(II) - solução a 2 por cento com adrenalina a 1:200.000 (CITANEST^{R} pediátrico).

A solução (I) já é conhecida e utilizada internacionalmente, mas a solução (II) passou a ser fabricada no Brasil após as pesquisas de NEDER et alii (1976). Nestas pesquisas, demonstrou-se que a solução com o Citanest menos concentrado, e com baixo teor de adrenalina, tem eficácia clínica comparável ao CITANEST com OCTAPRESSIN^{R} e à XYLOCAÍNA^{R} com adrenalina a 1:50.000 e a outras

soluções anestésicas, com maiores concentrações de anestésico e vasoconstritor, comercializadas para uso odontológico.

À vista do exposto e levando-se em consideração estudos e observações feitas pelo pesquisador em experiências-piloto, não relatadas aqui, o presente trabalho propõe-se a:

a - Apresentar um novo método de experimentação que visa quantificar os parâmetros duração e intensidade da anestesia parcial, em dorso de cobaio, inspirado pelo método de BÜLBRING & WAJDA (1945);

b - Sugerir um novo índice (DI) bi-dimensional para a quantificação daqueles parâmetros.

A fim de verificar-se a consecução dos objetivos aos quais o método se propõe, que são: a melhoria da *reprodutibilidade**, da *precisão*** e da *fidedignidade****, estudar-se-á o efeito de concentrações crescentes de adrenalina e felilpressina (OCTAPRESSIN^{R}) sobre a anestesia - causada pela prilocaína (CITANEST^{R}), em dorso de cobaio.

---

* *Reprodutibilidade* = igualdade estatística entre dois experimentos independentes, com o mesmo método.

** *Precisão* = variabilidade insignificante estatistica - mente.

*** *Fidedignidade* = resultados coerentes com os encontrados na literatura e com as ações farmacológicas das drogas.

II - MATERIAL E MÉTODOS

1 - ANIMAIS UTILIZADOS

Foram utilizados no experimento 44 cobaios *(Cavia porcellus)*, divididos em dois grupos de 22, sendo o primeiro constituído de animais padronizados quanto à linhagem e controle de criação, e destinado à primeira fase experimental (Fase 1); o segundo, de animais não padronizados, obtidos no comércio da cidade de Belo Horizonte, utilizados na segunda fase (Fase 2). O grupo padronizado foi cedido pelo Biotério Central do Campus de Botucatu, da Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", e o grupo não padronizado foi adquirido em diversas fontes. Para a formação deste grupo, foram adotados critérios de seleção inicial, recusando-se os animais que, por condições particulares desfavoráveis, pudessem confundir os resultados, ou de alguma forma interferir com a padronização do método planejado, desenvolvido em experiências-piloto.

2 - DROGAS E SOLUÇÕES - GRUPOS EXPERIMENTAIS

2.1 - DROGAS

As drogas utilizadas no preparo das soluções experimentais foram as seguintes:

a - Agente anestésico:

Prilocaína: N-(2-metilfenil)-2-(propilamino)-propanamida, ("Citanest^{R}") - em solução a 3 por cento com pH 4,6, da Astra Química do Brasil, cedida por esta, correspondente à preparação comercial "Citanest com Octapressin^{R}", porém sem vasoconstritor.

b - Vasoconstritores:

Adrenalina, em solução injetável a 1:1000 - "Hypofarma".

Felilpressina: 2-(fenilalanina)-8-lisinavasopressina "Octapressin^{R}", da Astra Química do Brasil, em solução a 0,45 mg/ml (25 UI/ml).

2.2 - SOLUÇÕES UTILIZADAS E GRUPOS EXPERIMENTAIS

A prilocaína a 3 por cento foi o agente anestésico comum a todas as soluções utilizadas, que diferiram apenas quanto ao tipo e concentração do vasoconstritor adicionado. Esses vasoconstritores foram a adrenalina e a felilpressina, em concentrações que, embora de valores absolutos diferentes, observaram intervalos idênticos na escala logarítmica, com o log intervalo = 0,3.

A partir desse ponto, todas as referências a concentrações de drogas serão feitas em microgramas por centímetro cúbico (µg/ml), de preferência às representações convencionais, isto é, partes por mil para a adrena-

lina, e Unidades Internacionais para a felilpressina. Quando, porém, julgar-se necessária a referência convencional, esta será feita entre parêntesis.

O tipo e a concentração do vasoconstritor foram os fatores que orientaram a formação e denominação dos grupos experimentais, em número de 11, um para cada solução anestésica.

Para facilitar a identificação, foram atribuídas às soluções experimentais, fórmulas - símbolo, em caracteres arábicos, nas quais os símbolos - iniciais maiúsculas - representam os componentes em sua maior concentração, considerada como concentração-base, ou como ponto de partida para as diluições diversas. Assim tem-se:

P = prilocaína a 3 por cento

A = adrenalina a 20 µg/ml (1:50.000)

F = felilpressina a 2,16 µg/ml (0,12 UI/ml)

Nas soluções em que o vasoconstritor utilizado é uma diluição da concentração-base, o valor dessa diluição aparece representado por um índice - numeral cardinal - que é o divisor desta concentração básica.

Exemplificando:

As concentrações da solução representada pela fórmula "PA_8" são:

P = prilocaína a 3 por cento

$$A_8 = \frac{A}{8} = \frac{20\mu g \text{ de adrenalina/ml}}{8} = \text{adrenalina a } 2,5\ \mu g/ml$$

Então:

PA_8 = prilocaína a 3 por cento com adrenalina a 2,5 µg/ml (1:400.000).

A fórmula-símbolo da solução experimental é que dá nome ao grupo experimental correspondente, e por isto, neste trabalho ambos se identificam, sendo a fórmula-símbolo apenas precedida das palavras "solução" ou "grupo", nas próximas citações.

Todas as soluções, após o preparo, foram acondicionadas em frascos de vidro de 20 ml, fechados com tampas de borracha e sobretampas de alumínio. Após a rotulação, os frascos foram recobertos com papel aluminizado a fim de manter desconhecida a solução durante os experimentos, e foram colocadas etiquetas adesivas em branco, destinadas a receber anotações durante os mesmos, permitindo-se, posteriormente, a identificação das soluções anestésicas e caracterização dos grupos experimentais, ao fim de cada fase experimental.

Foram utilizadas apenas soluções preparadas no dia anterior ao início da fase experimental, a partir de drogas de aquisição recente, no comércio (adrenalina), ou cedidas pelo fabricante (CITANEST^R, OCTAPRESSIN^R).

2.3 - VIA DE ADMINISTRAÇÃO, DOSES E VOLUME UTILIZADOS

Foi utilizado para todas as administrações, o volume de 0,15 ml por via subcutânea. Esse volume de solução, além da dose fixa de 45 mg de prilocaína, foi veículo para as seguintes concentrações de vasoconstritores:

Soluções anestésicas ou grupos experimentais

1) P = prilocaína a 3 por cento (sem vasoconstritor).

2) PA = prolocaína a 3 por cento com adrenalina a 20 µg/ml (ou 1:50.000). (Solução básica).

3) PA_2 = prilocaína a 3 por cento com adrenalina a 10 µg/ml (ou 1:100.000).

4) PA_4 = prolocaína a 3 por cento com adrenalina a 5 µg/ml (ou 1:200.000).

5) PA_8 = prilocaína a 3 por cento com adrenalina a 2,5 µg/ml (ou 1:400.000).

6) PA_{16} = prilocaína a 3 por cento com adrenalina a 1,25 µg/ml (ou 1:800.000).

7) PF = prilocaína a 3 por cento com felilpressina a 2,16 µg/ml (ou 0,12 UI/ml). (Solução básica).

8) PF_2 = prilocaína a 3 por cento com felilpressina a 1,08 µg/ml (ou 0,06 UI/ml).

9) PF_4 = prilocaína a 3 por cento com felilpressina a 0,54 µg/ml (ou 0,03 UI/ml).

10) PF_8 = prilocaína a 3 por cento com felilpressina a 0,27 µg/ml (ou 0,015 UI/ml).

11) PF_{16} = prilocaína a 3 por cento com felilpressina a 0,13 µg/ml (ou 0,0075 UI/ml).

Conteúdo, em µg, por volume-dose (.0,15 ml)

Grupo P

Grupo PA = adrenalina: 3 µg

Grupo PA_2 = adrenalina: 1,5 µg

Grupo PA_4 = adrenalina: 0,75 µg

Grupo PA_8 = adrenalina: 0,37 µg

Grupo PA_{16}= adrenalina: 0,19 µg

Grupo PF = felilpressina: 0,32 µg

Grupo PF_2 = felilpressina: 0,16 µg

Grupo PF_4 = felilpressina: 0,08 µg

Grupo PF_8 = felilpressina: 0,04 µg

Grupo PF_{16}= felilpressina: 0,02 µg

Tanto a via de administração, como o volume de solução para cada injeção, foram determinados após observações feitas em experiências piloto, quando diversos volumes foram injetados de vários modos, nas vias subcutânea e intradérmica de cobaios, comparando-se os resultados (não relatados aqui).

3 - DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL

O experimento desenvolveu-se em duas fases idênticas quanto aos métodos empregados, número de ani-

mais e número e tipos de soluções anestésicas, sendo, pois, a segunda fase (Fase 2), uma repetição da primeira (Fase 1), embora em outra oportunidade.

A seqüência experimental foi a seguinte: 1) tricotomia; 2) determinação dos locais de injeção; 3) administração de injeções subcutâneas; 4) definição de áreas e pontos de teste; 5) testes de sensibilidade.

3.1 - TRICOTOMIA

Foi realizada segundo um processo de depilação química desenvolvido em experiências piloto que, comparado com os processos convencionais, foi o único capaz de remover todo o pelo emergente, sendo ainda o de mais fácil execução, mais rápido e de menor efeito irritante local.

A depilação de toda a região dorsal do cobaio, das saliências dos omoplatas, aos ílios em sentido sagital, e em aproximadamente 6 cm dos lados da linha mediana no sentido transversal, foi feita do seguinte modo:

Iniciando-se pelo corte rente dos pelos com uma tesoura, a solução depilatória comercial ("Água Depilatória Aurora"^{R})*, diluída a 50 por cento em água, era aplicada com uma compressa de gaze, sem esfregar, até a embebição dos pelos. Dez minutos depois, o animal era lavado abundantemente em água morna corrente, para retirar toda a pasta então formada, por pelos dissolvidos e restos de solução. Para ser enxugado e aquecido, o animal era envolvido em uma toalha para absorver o excesso de água,

* Belfam Cosméticos

sendo depois levado a uma estufa especial, para evitar seu resfriamento e desconforto.

- Essa estufa se constituiu em uma caixa de papelão medindo 40 x 30 x 20 cm, sem a tampa, em cuja boca foi colocada uma travessa de madeira suportando uma lâmpada comum de 100 w e um termômetro em escala centígrada, com o reservatório de Hg distando 5 cm do fundo. A temperatura no interior da câmara podia ser controlada pela variação da quantidade de calor produzida pela lâmpada, regulada por um reostato.

Com o animal colocado na estufa a uma temperatura inicial de aproximadamente 40°C, o reostato era ajustado em um pique no dial a cada 10 minutos, baixando progressiva e lentamente a temperatura, até se igualar à temperatura ambiente que, durante os experimentos oscilou entre 21 e 24°C.

A tricotomia era feita em quatro animais de cada vez, e enquanto se desenvolvia o experimento com um deles, os restantes permaneciam no interior da câmara, então desligada, até o momento de sua utilização.

3.2 - DETERMINAÇÃO DOS LOCAIS DE INJEÇÃO

Levando em consideração a marcada diferença no grau de sensibilidade em regiões diferentes do dorso do cobaio, julgou-se necessário padronizar a localização

das 4 injeções num mesmo animal, de tal modo que a mesma localização pudesse ser reproduzida em todos os animais.

Essa padronização foi conseguida com o auxílio de um gabarito de plástico, flexível, mas não dobrável, possuindo um traço longitudinal e outro transversal, perpendiculares entre si, formando 4 quadrantes, e em cada um deles um orifício de aproximadamente 1 mm de diâmetro distando 2 cm do traço longitudinal a 3 cm do transversal.

Para adaptar esse gabarito ao dorso do cobaio, fazia-se coincidir o traço longitudinal com a linha mediana do animal, dividindo o dorso em duas partes iguais, direita e esquerda; a seguir, deslocava-se o gabarito em sentido ântero posterior, até que o traço transversal dividisse o dorso em duas partes de igual comprimento, uma anterior e outra posterior. Finalmente, o gabarito era fixado por meio de uma cinta de papel colante que, passando pelo abdômem, prendia os dois bordos livres. Através dos 4 orifícios eram então marcados quatro pontos, na própria pele do animal. Esses pontos ficavam assim simetricamente distribuídos, distando os direitos 4 cm dos esquerdos, e os anteriores 6 cm dos posteriores.

Dois pontos em cada uma das linhas divisórias do gabarito eram marcados, por processo idêntico ao anterior, servindo como pontos de referência para o traçado das linhas demarcatórias dos 4 quadrantes diretamente sobre o dorso do animal (Figura 1).

Assim preparado, o animal era introduzido em uma câmara de contenção especial, que o mantinha imóvel durante as injeções, após convenientemente ajustada.

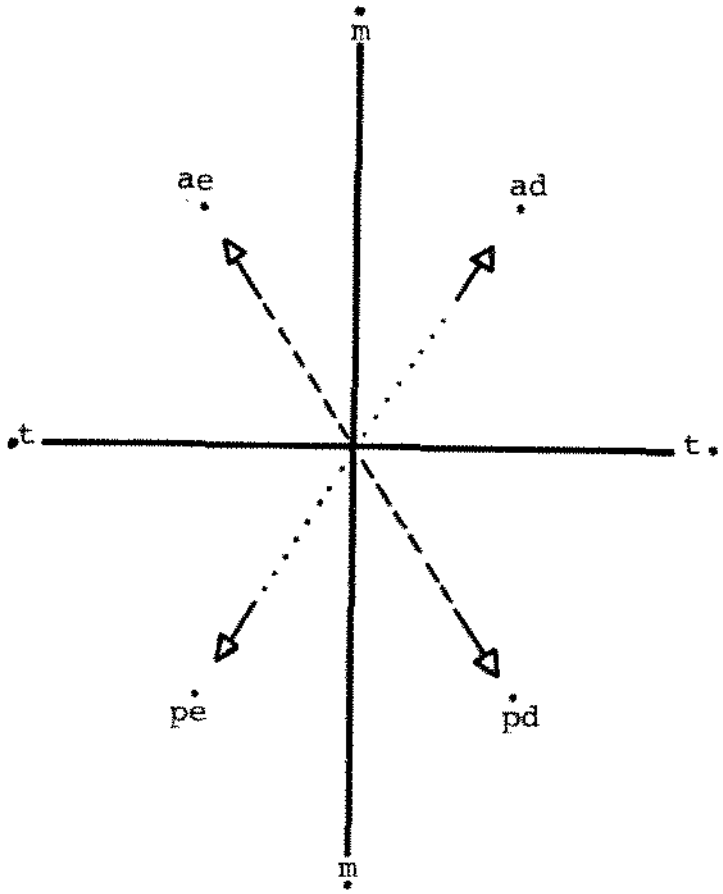


FIGURA 1 - Esquema das marcações feitas no dorso do cobaio para determinar os pontos de inserção da agulha, nas injeções subcutâneas

mm = Linha mediana
tt = Linha transversal
ae = ponto anterior esquerdo
pd = ponto posterior direito
ad = ponto anterior direito
pe = ponto posterior esquerdo
---- = Código 1 = pontos para a injeção da solução 1
.... = Código 2 = pontos para a injeção da solução 2

Essa câmara foi idealizada para a contenção do cobaio sem o concurso de um auxiliar, podendo ser assim descrita:

A parte P (piso) possui 8 orifícios em fenda, que permitem a passagem e deslizamento de parafusos, presos às bordas inferiores das laterais L_1, L_2, L_3 e L_4, direcionados para baixo, que podem ser fixados por porcas tipo borboleta. Esses componentes móveis permitem variar as dimensões internas da câmara, na largura, de 6 a 9 cm, e na profundidade, de 12 a 18 cm, permanecendo a altura constante, em 7 cm.

O teto T pode ser deslocado em sentido ântero-posterior, permitindo situar-se o orifício O, de 4 x 6 cm, sobre a região correspondente do animal. As travessas que o sustentam permitem, uma vez retiradas, elevar o teto em movimento de báscula.

3.3 - ADMINISTRAÇÃO DE INJEÇÕES SUBCUTÂNEAS

Para controle das administrações e posterior identificação das soluções anestésicas utilizadas, mantidas incógnitas até o final de cada fase experimental, foram convencionados dois códigos, denominados 1 e 2, que indicaram os locais das administrações em um mesmo animal (ver figura 1, página 27):

CÓDIGO 1 - Quando a mesma solução foi injetada nos quadrantes anterior esquerdo (ae) e posterior direito (pd).

CÓDIGO 2 - Quando a mesma solução foi injetada nos quadrantes opostos aos do código 1: anterior direito (ad) e posterior esquerdo (pe).

No desenvolvimento descritivo deste trabalho, as áreas ou quadrantes serão citados abreviadamente e entre parênteses, como acima, podendo também ser substituídos pelo código correspondente, quando considerados em conjunto.

As administrações obedeceram a mesma ordem e seqüência para todos os animais: primeiramente as do código 1, e neste, primeiro no quadrante ae, e depois no quadrante pd. A seguir, as do código 2, primeiro no quadrante ad, e finalmente no quadrante pe.

Para cada animal eram separados aleatoriamente dois frascos de solução anestésica, retirando-se de cada um, com uma seringa plástica de 1 ml*, munida com agulha 10 por 3, o volume de 0,3 ml (com um pouco de excesso para não utilizar a última porção do conteúdo), suficiente para as duas injeções. Registrava-se, tanto nos frascos como nas seringas, o código correspondente e o número do animal. Estas seringas eram utilizadas apenas uma vez, sendo guardadas para eventual conferência com os registros dos frascos, na identificação das soluções, no final dos experimentos da fase.

---

* "Ibrasgamma"^{R}, tipo tuberculina.

Após a utilização, os frascos eram separados em dois grupos, segundo o último código registrado. Para cada série de administrações seguinte, em outro animal, eram retirados um frasco de cada grupo, ficando assegurada a alternância de códigos para uma mesma solução. Quando completadas as quatro marcas no mesmo frasco, indicando que dele já haviam sido retiradas as alíquotas programadas, este era retirado do rodízio.

Com esse controle, ao final da fase experimental, cada animal havia recebido quatro injeções, de duas soluções diferentes, alternadas nos quatro quadrantes, e cada solução havia sido administrada oito vezes, em quatro animais, duas vezes em cada quadrante.

Técnica de administração

Tomando e levantando a pele do animal com os dedos indicador e polegar da mão esquerda, através do orifício O devidamente posicionado, levava-se a seringa obliquamente à pele, inserindo-se a agulha no ponto previamente marcado (ver Figura 1, página 27), até atravessá-la. Liberando a pele, a seringa era mantida na mesma posição, e tracionada apenas o suficiente para levantar a pele, abrindo-se assim um espaço para a deposição da solução, feita de modo lento, e, tanto quanto possível uniforme, em aproximadamente 10 segundos. Para a retirada da agulha sem tracionar excessivamente a pele, segurava-se com a mão esquerda uma pinça com os mordentes em seu redor, mas sem prendê-la, apenas para contrapor força ao movimento de tração e torção, durante a sua retirada. Esses cui-

dados permitiram, quase sempre a distribuição, com relativa uniformidade, da solução anestésica em torno do ponto de punção da agulha, sem vazamento ou hemorragia, o que não ocorreu nas experiências piloto, quando se fez as injeções de diversas maneiras.

Quando ocorria vazamento, hemorragia, ou distribuição de modo irregular da solução, o que ocorreu em raros casos, a administração era considerada fora de padrão, suspendendo-se o experimento; as anotações correspondentes nos frascos e seringas eram anuladas, registrando-se o evento na ficha individual.

O intervalo entre as administrações no mesmo animal era controlado em 60 segundos. Após as quatro administrações, o animal era liberado da caixa de contenção, sem ser tocado com as mãos, para evitar uma possível compressão das bolhas, forçando a difusão da solução de modo diferente da difusão normal.

3.4 - DEFINIÇÃO DAS ÁREAS E PONTOS DE TESTE

Seis minutos após a última administração, o animal era retomado, passando-se à definição e demarcação das áreas e pontos para os testes periódicos de sensibilidade:

a - Determinação da área anestesiada

A partir do ponto de inserção da agulha, eram feitos estímulos mecânicos - picadas com agulha hipodérmica em linha reta e em número de aproximadamente 4

por cm, primeiro para proximal, e depois para distal, medial e lateral, pela ordem, até encontrar sensibilidade, marcando-se aí com tinta; ficava, assim, determinada a extensão da área anestesiada,em quatro sentidos.

Quando alguma área anestesiada atingia linhas limítrofes do quadrante correspondente (ver Figura 1, página 27), mas sem intersecção com áreas anestesiadas dos quadrantes vizinhos, não se dava maior atenção, embora se fizesse o registro na ficha individual, para eventual interpretação dos resultados, caso ficasse evidenciado que essa extensão inesperada não era casual (se se repetisse com maior freqüência para uma mesma solução anestésica). Quando porém a intersecção ocorreu, o experimento não foi considerado válido para os propósitos desta pesquisa, embora ficasse o evento registrado na ficha individual e frasco correspondente, pelo mesmo motivo acima citado.

b - Determinação das áreas e pontos de teste

Para assegurar a igualdade de condições para todos os testes desta pesquisa, independentemente da solução anestésica ou animal utilizado, e da extensão da área anestesiada, julgou-se conveniente que os testes periódicos de 6 pontos insensíveis fossem realizados em áreas e pontos idênticos em relação ao animal, em virtude das diferenças de sensibilidade dorsal, desde que estas áreas de teste estivessem aproximadamente no centro da área anestesiada. Por esta razão, no passo anterior desta etapa experimental, quando a área anestesiada foi muito irregular,ou anormalmente deslocada do local esperado, o experimento foi considerado sem efeito.

A determinação dos pontos que delinearam as áreas de teste para cada injeção foi feita com o auxílio de um gabarito plástico, semelhante ao utilizado na determinação dos locais de injeção, mas que, ao invés de ser mantido na mesma posição, podia ser deslocado para cada área anestesiada do modo mais conveniente.

Em cada uma das áreas de teste eram marcados 9 pontos, simetricamente distribuídos, sobre dois círculos concêntricos (imaginários) com diâmetros de 2 e 1 cm respectivamente. Esses pontos, destinados a receber os estímulos, em número de 6 para cada série de testes periódicos, foram assim distribuídos e nomeados (ver Figura 2, página 34):

a) Sobre o círculo externo:

Proximal 1
Distal 2
Medial 3
Lateral 4

b) No centro:

Central 5

c) Sobre o círculo interno:

Médio-proximal 6
Médio-distal 7
Látero-distal 8
Látero-medial 9

Além desses pontos experimentais, foram marcados ainda 2 pontos-controle, para avaliar o tipo e a in

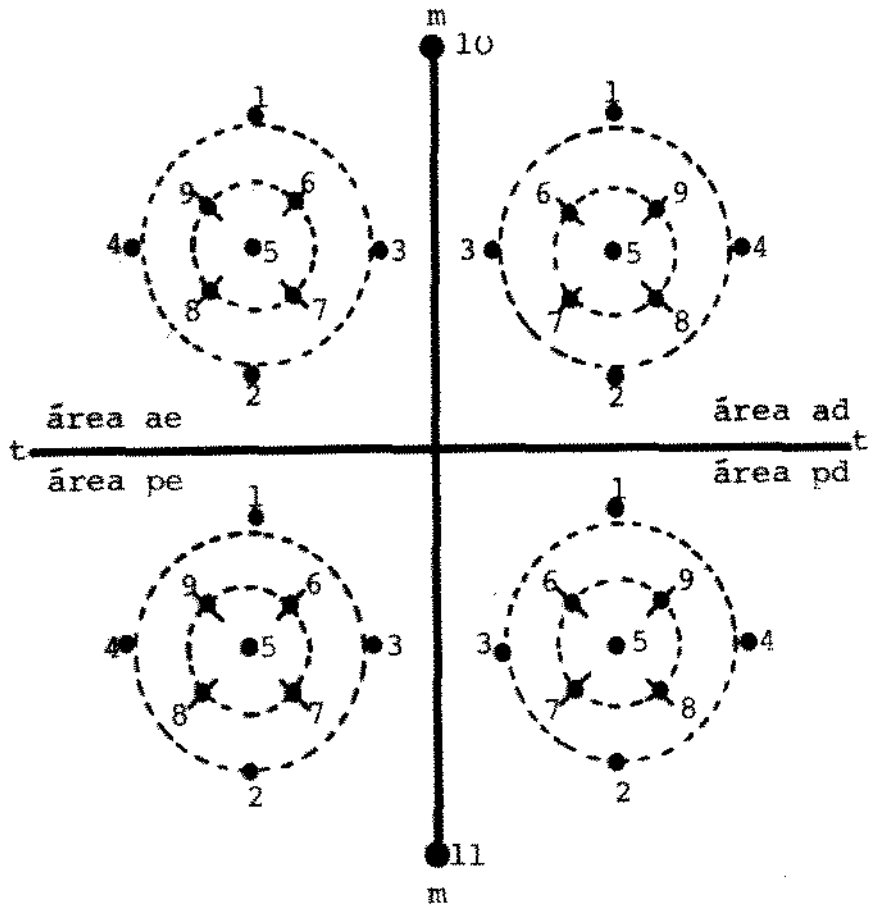


FIGURA 2 - Esquema das marcações feitas no dorso do cobaio para determinar as áreas e pontos de teste de sensibilidade

mm = Linha mediana

tt = Linha transversal

● = Pontos estimulados em todas as séries: 10 e 11 (controles) e 1, 2, 3, 4 e 5.

-●- = Pontos estimulados em rodízio, um em cada série: 6, 7, 8 e 9.

tensidade da resposta individual do cobaio frente à dor, situados em áreas nunca atingidas pela anestesia, sobre a linha mediana:

Mediano anterior 10
Mediano posterior 11

3.5 - TESTES DE SENSIBILIDADE

Houve preocupação em se conseguir um nível razoável de padronização na intensidade e rítmo dos estímulos, procurando-se reduzir a um mínimo aceitável, as variações de ordem pessoal do experimentador.

Um estimulador mecânico simples foi especialmente idealizado para esse tipo de experimento, a fim de gerar um estímulo de intensidade controlada que, embora suave, sempre foi capaz de provocar uma resposta bem definida do animal frente à dor, sem contudo levar a mudanças sensíveis de comportamento, até o fim dos testes.

Esse estimulador constou de uma agulha hipodérmica 10 x 5, com a ponta virada em ângulo de aproximadamente 130° contra bisel, formando uma farpa, acoplada a uma seringa plástica de 1 ml para servir como cabo.

A estimulação era feita do seguinte modo: o cobaio era colocado sobre uma mesa, defronte e com a cabeça voltada para a esquerda do experimentador que, com os antebraços apoiados, em ângulo reto com os braços, segurava na mão direita o estimulador (como se segura um lápis), com a farpa voltada para a esquerda; a mão esquer

da em concha oferecia abrigo ao animal, que protegendo a cabeça, quase sempre se mantinha imóvel durante os testes. A seguir, era feita a verificação da sensibilidade com estimulações ritmadas, controladas por um metrônomo* regulado em 60 MM e compasso 2 (Um som seco e um musical se intercalando a cada segundo), em dois tempos distintos:

1º Tempo:

O estimulador era levado perpendicularmente à superfície do animal até tocar a pele, e pressionado - obliquamente, para baixo e para a esquerda, apenas o suficiente para se prender a farpa à pele, sobre o ponto previamente marcado.

2º Tempo:

Com uma torção no pulso, em sentido horário, imprimia-se um movimento de rotação no estimulador, fazendo a ponta da agulha descrever um semicírculo, arranhando a pele antes de se soltar.

Durante ambos os tempos da estimulação, a pele circundante era observada, se contraindo sempre quando sensível. Ocasionalmente, parece que mais por tendência do animal do que por diferenças no estímulo (isto não ficou bem definido), a contração da pele se dava em região distante, geralmente na cervical.

O metrônomo - controlava com um ciclo completo (2 segundos) os dois tempos, com o som seco para o primeiro tempo, e o musical para o segundo.

---

* WITTNER^{R}, Mälzel System

A série de testes para uma mesma área era feita espaçando-se em um ciclo as estimulações entre dois pontos, sendo testados 8 pontos, dois controles e 6 experimentais. A seqüência observada para uma série, sempre aberta e fechada, respectivamente pelos pontos-controle 10 e 11, era a seguinte: pontos 1 a 5, na ordem de seus números; o 6º ponto testado era um dos pontos (6 a 9), sobre o círculo central, em rodízio a cada série, em sentido horário para as áreas de teste do lado direito, e anti-horário para as do lado esquerdo, começando na primeira série de testes, pelo ponto 6 (ver figura 2, página 34).

Nas séries finais, quando um ou mais pontos se mostravam sensíveis, terminada a série eram novamente testados para confirmação, o mesmo ocorrendo quando havia dúvida quanto à resposta em algum ponto.

Com cada um dos 8 estímulos da série durando 2 segundos, e observando-se igual período entre um estímulo e outro, toda a série durava 30 segundos, eventualmente acrescidos do tempo gasto com as repetições. Ao fim de cada série, a soma de pontos insensíveis era registrada no local próprio do campo 8 da ficha individual (ver página 38).

As séries de testes periódicos nas quatro áreas de teste obedeciam a mesma ordem e intervalo das administrações correspondentes: ae-pd-ad-pe, e 60 segundos entre uma e outra. Este tempo entre as séries, além de oferecer oportunidade para o registro dos dados da série anterior, igualava o tempo decorrido entre a administração e a série de testes para todas as áreas.

Modelo reduzido da ficha individual

① 1 Fase		③ Código						③ Código					
		④ P			④ P			④ PF_8			④ PF_8		
② 04 Cobaio		⑤ ae			⑤ pd			⑤ ad			⑤ pe		
⑥	⑦	⑧	⑨	⑩	⑧	⑨	⑩	⑧	⑨	⑩	⑧	⑨	⑩
1	6	6	*	*	6	*	*	6	*	*	6	*	*
2	12	6			6			6			6		
3	18	6			6			6			6		
4	24	6			6			6			6		
5	30	6			6			6			6		
6	36	6			6			6			6		
7	42	6			6			6			6		
8	48	4	1.3		6			6			6		
9	54	3			5	3		5	1		6		
10	60	1		4	3			4			6		
11	66	-			1		2	2			4	3.6	
12	72	-			-			1		4	2		
13	78	-			-			-			1		2
14	84	-			-			-			-		
15	90												
⑪		51			57			60			67		
⑫ *		42			48			48			60		
⑬ *		18			18			24			18		
⑭ *		-			-			-			-		

4 - Solução anestésica
5 - Locais de administração
6 - Número da série de testes
7 - Tempo desde a administração
8 - Número de pontos insensíveis por série
* 9 - Início da recuperação (número do(s) ponto(s)
*10 - Último ponto insensível
11 - Soma de pontos insensíveis = DIi (índice individual de duração e intensidade)
*12 - Tempo de anestesia completa
*13 - Duração do período de recuperação
*14 - Extensão da anestesia (área em cm^2)
* - Não foram utilizados neste experimento

Os pontos nos quais a sensibilidade era recuperada, eram marcados com um "X", registrando-se o número do ponto onde apareceu a primeira sensibilidade (marcando o início da recuperação da anestesia na área), no campo 9 da ficha individual (ver página 38). Nas séries seguintes, a estimulação nesses pontos passava a ser apenas simulada, observando-se os mesmos tempos e movimentos, mas sem deixar que o estimulador tocasse a pele.

As quatro séries de testes assim realizadas, eram repetidas a cada 6 minutos, até a completa recuperação da sensibilidade, assim considerada quando restava apenas um ponto insensível, sendo este ponto registrado no campo 10 da ficha individual.

Quando todos os pontos de uma das áreas estavam com a sensibilidade recuperada, marcava-se com um grande "X" essa área, que, a exemplo dos pontos em separado, não voltava a ser estimulada, real ou simuladamente, embora fosse aguardado o tempo para ela reservado, antes de se passar à área seguinte.

Encerrado o experimento para um animal, este era liberado, não voltando a ser utilizado em nenhuma outra oportunidade, a fim de ser evitado o efeito de "training" observado nas experiências piloto.

Como as medidas de tempos foram consideradas importantes na padronização do método, só eram iniciados os experimentos no animal seguinte, depois de terminado os do animal anterior.

Terminada a primeira fase experimental, fo-

ram coletados os dados das fichas individuais, identificadas as soluções, e descartados todos os animais e soluções até então utilizados.

40 dias depois, foi iniciada a segunda fase experimental, após o preparo de novas soluções idênticas às primeiras, com drogas de aquisição recente, e a obtenção de novo lote de animais.

4 - MÉTODOS DE AVALIAÇÃO

A quantificação do efeito anestésico foi feita segundo o método de Bülbring e Wajda (1945), com amplas modificações.

A fim de tomar-se a leitura da soma de pontos insensíveis, diretamente em tempo de duração, as séries de testes periódicos de 6 pontos foram realizadas a cada 6 minutos, dando uma média de 1 ponto por minuto, permitindo o estabelecimento da igualdade:

1 ponto insensível = 1 minuto de duração

Foram estabelecidos Índices bidimensionais que expressam a duração a intensidade da anestesia simultaneamente, com um único valor absoluto, por englobarem valores numéricos das anestesias parcial e total em determinada área de testes. Esses Índices foram denominados "DI", iniciais dos parâmetros de ação anestésica que representam: duração e intensidade.

4.1 - ESTABELECIMENTO DOS ÍNDICES DI

Os índices DI representam valores médios de determinado número de experimentos, cujos valores unitários são os índices individuais de duração e intensidade, representado,simbolicamente por DIi, que se relacionam aos efeitos de uma única injeção de anestésico. O valor numérico de cada DIi é a soma de pontos insensíveis(ΣPI*):

$$DIi = \Sigma PI \qquad (1)$$

Quando se fizer necessário especificar a fase experimental a que se refere certo índice DIi, este se faz acompanhar por 1 ou 2, se se relaciona à fase 1 ou à fase 2.

Os índices DIi são obtidos pela leitura do ítem 11 da ficha individual (ver página 38).

A média dos índices DIi de diversos experimentos aparece representada por "DI". Quando se referir a somente uma das fases experimentais, o símbolo DI se faz acompanhar por 1 ou 2, respectivamente para as fases 1 ou 2. O número n de experimentos segue a mesma regra.

$$DI_1 = \frac{\Sigma DIi_1}{n_1} \qquad (2) \qquad\qquad DI_2 = \frac{\Sigma DIi_2}{n_2} \qquad (3)$$

---

* Σ = somatória; PI = pontos insensíveis.

$$DI = \frac{\Sigma DIi_1 + \Sigma DIi_2}{n_1 + n_2} \qquad (4)$$

(Neste experimento: $n_1 = n_2 = 8$)

(2) = Índice de duração e intensidade da fase 1
(3) = Índice de duração e intensidade da fase 2
(4) = Índice geral de duração e intensidade, ou média para os dois índices anteriores.

4.2 - MÉTODOS ESTATÍSTICOS UTILIZADOS

a - Para a verificação da *reprodutibilidade do método* (primeiro estudo), serão comparados entre si os índices DI_1 e DI_2, obtidos respectivamente nas fases experimentais 1 e 2. A hipótese de nulidade será assumida como verdadeira, se a probabilidade de serem iguais for maior que 99 por cento ($p < 0,01$).

b - A *precisão do método* (segundo estudo) será testada pela avaliação estatística da variabilidade de cada índice DI, medida pelo percentual do valor em minutos do limite de confiança (LF a nível de probabilidade de 1 por cento). Convencionou-se aceitar como estatisticamente significativa, a precisão do índice DI cujo percentual de variação não ultrapassar a 10 por cento de seu valor.

c - A *fidedignidade do método* (terceiro estudo) será avaliada pela comparação entre os resultados com ele ob-

tidos, e dados congêneres encontrados na literatura.

A influência de uma concentração de adrenalina ou felilpressina será considerada estatisticamente - significativa, se tiver menos que 1 por cento de probabilidade de alterar o valor do índice DI de certa solução experimental, em relação ao controle, sem vasoconstritor.

O teste estatístico utilizado será a análise de variância de FISHER.

III - R E S U L T A D O S

Os resultados são apresentados em separado, para três tipos de estudo, segundo os objetivos do trabalho.

1 - PRIMEIRO ESTUDO - REPRODUTIBILIDADE

Não houve significância estatística na variabilidade observada entre os resultados da fase 1 e da fase 2 (índices DI_1 e DI_2), em todos os grupos experimentais, com 99 por cento de probabilidade de estar correta a afirmativa de que esses resultados foram iguais (TABELAS I a XI).

A hipótese de nulidade foi aceita, com larga margem de segurança, em virtude da considerável diferença existente entre os níveis de significância (valores de t), extraídos dos dados experimentais, e dos níveis tabelados.

T A B E L A I

Duração e intensidade da anestesia subcutânea (em minutos) pela prilocaína a 3 por cento, sem vasoconstritor, em dorso de cobaio (volume por injeção: 0,15 ml) (GRUPO P)

F A S E 1			F A S E 2		
Animal e Região		Índice DIi_1	Animal e Região		Índice DIi_2
04	ae	51	33	ad	50
	pd	57		pe	62
09	ae	53	41	ae	50
	pe	58		pd	58
29	ae	54	46	ad	56
	pe	59		pe	69
30	ad	60	48	ae	58
	pe	65		pd	60
Índice DI_1 ±Sm: 57,4 ± 1,3			Índice DI_2 ±Sm: 56,7 ± 1,4		
0,35* < 2,95** - NS					

Índice DIi = Índices individuais de duração e intensidade.
Índices $DI_{1 \text{ ou } 2}$ = Índices médios para as fases 1 ou 2 (n = 8)
Sm = Erro padrão da média
ad = região anterior direita
ae = região anterior esquerda
pd = região posterior direita
pe = região posterior esquerda
* = valor de t para a probabilidade p neste experimento
** = valor de $\bar{t}$ tabelado para a probabilidade p a nível de 1 por cento (0,01) com 14 graus de liberdade ($n_1 + n_2 - 2$) = (8 + 8 - 2)
NS = Não significante

T A B E L A II

Duração e intensidade da anestesia subcutânea (em minutos) pela prilocaína a 3 por cento com adrenalina a 20 µg por ml (1:50.000) em dorso de cobaio (volume por injeção: 0,15 ml) (GRUPO PA)

F A S E 1			F A S E 2		
Animal e Região		Índice DIi_1	Animal e Região		Índice DIi_2
08	ad	70	35	ae	64
	pe	74		pd	73
14	ae	65	39	ad	70
	pd	68		pe	70
19	ad	60	45	ae	60
	pe	65		pd	70
26	ae	70	51	ad	63
	pd	75		pe	61
Índice DI_1 ±Sm: 68,4 ± 1,8			Índice DI_2 ±Sm: 66,4 ± 1,7		

0,8* < 2,95** - NS

Índice DIi = Índices individuais de duração e intensidade.
Índices $DI_{1 \text{ ou } 2}$ = Índices médios para as fases 1 ou 2 (n = 8)
Sm = Erro padrão da média.
ad = região anterior direita
ae = região anterior esquerda
pd = região posterior direita
pe = região posterior esquerda
* = valor de t para a probabilidade p neste experimento
** = valor de $\bar{t}$ tabelado para a probabilidade p a nível de 1 por cento (0,01) com 14 graus de liberdade $(n_1 + n_2 - 2) = (8 + 8 - 2)$
NS = Não significante

T A B E L A III

Duração e intensidade da anestesia subcutânea (em minutos) pela prilocaína a 3 por cento com adrenalina a 10 µg por ml (1:100.000) em dorso de cobaio (volume por injeção: 0,15 ml) (GRUPO PA_2)

F A S E 1			F A S E 2		
Animal e Região		Índice DIi_1	Animal e Região		Índice DIi_2
05	ae	71	32	ae	73
	pd	74		pd	79
12	ae	74	38	ad	68
	pe	82		pe	73
18	ae	66	47	ae	64
	pd	72		pd	68
27	ad	69	53	ad	71
	pe	74		pe	78
Índice DI_1 ±Sm: 72,4 ± 1,4			Índice DI_2 ±Sm: 71,4 ± 1,5		

0,41* < 2,95** - NS

Índices DIi = Índices individuais de duração e intensidade
Índices $DI_{1 \text{ ou } 2}$ = Índices médios para as fases 1 ou 2 (n = 8)
Sm = Erro padrão da média
ad = região anterior direita
ae = região anterior esquerda
pd = região posterior direita
pe = região posterior esquerda
* = valor de t para a probabilidade p neste experimento
** = valor de $\bar{t}$ tabelado para a probabilidade p a nível de 1 por cento (0,01) com 14 graus de liberdade $(n_1 + n_2 - 2) = (8 + 8 - 2)$
NS = Não significante

T A B E L A IV

Duração e intensidade da anestesia subcutânea (em minutos) pela prilocaína a 3 por cento com adrenalina a 5 µg por ml (1:200.000) em dorso de cobaio (volume por injeção: 0,15 ml) (GRUPO PA_4)

F A S E 1			F A S E 2		
Animal e Região		Índices DIi_1	Animal e Região		Índice DIi_2
01	ae	68	36	ad	65
	pd	74		pe	69
11	ad	68	42	ae	70
	pe	67		pd	75
17	ae	72	50	ad	69
	pd	75		pe	72
24	ad	60	56	ae	59
	pe	74		pd	65
Índice DI_1 ±Sm: 69,7 ± 1,8			Índice DI_2 ±Sm: 68,0 ± 1,7		
0,68* < 2,95** - NS					

Índices DIi = Índices individuais de duração e intensidade
Índices $DI_{1 \text{ ou } 2}$ = Índices médios para as fases 1 ou 2 ($n = 8$)
Sm = Erro padrão da média
ad = região anterior direita
ae = região anterior esquerda
pd = região posterior direita
pe = região posterior esquerda
* = valor de t para a probabilidade p neste experimento
** = valor de $\bar{t}$ tabelado para a probabilidade p a nível de 1 por cento (0,01) com 14 graus de liberdade ($n_1 + n_2 - 2$) = (8 + 8 - 2)
NS = Não significante

T A B E L A V

Duração e intensidade da anestesia subcutânea (em minutos) pela prilocaína a 3 por cento com adrenalina a 2,5 g por ml (1:400.000) em dorso de cobaio (volume por injeção: 0,15 ml) (GRUPO PA_8)

F A S E 1			F A S E 2		
Animal e Região		Índice DIi_1	Animal e Região		Índice DIi_2
02	ae	34	32	ad	43
	pd	40		pe	50
06	ad	40	46	ae	33
	pe	46		pd	40
08	ae	36	49	ad	43
	pd	42		pe	46
22	ad	44	54	ae	40
	pe	47		pd	45
Índice DI_1 ±Sm: 41,0 ± 1,6			Índice DI_2 ±Sm: 43,0 ± 1,9		
1,05* < 2,95** - NS					

Índices DIi = Índices individuais de duração e intensidade
Índices $DI_{1 \text{ ou } 2}$ = Índices médios para as fases 1 ou 2 (n = 8)
Sm = Erro padrão da média
ad = região anterior direita
ae = região anterior esquerda
pd = região posterior direita
pe = região posterior esquerda
* = valor de t para a probabilidade p neste experimento
** = valor de $\bar{t}$ tabelado para a probabilidade p a nível de 1 por cento (0,01) com 14 graus de liberdade $(n_1 + n_2 - 2) = (8 + 8 - 2)$
NS = Não significante

T A B E L A VI

Duração e intensidade da anestesia subcutânea (em minutos) pela prilocaína a 3 por cento com adrenalina a 1,25 µg por ml (1:800.000) em dorso de cobaio (volume por injeção: 0,15 ml) (GRUPO PA_{16})

F A S E 1			F A S E 2		
Animal e Região		Índice DIi_1	Animal e Região		Índice DIi_2
05	ad	36	37	ad	40
	pe	44		pe	43
12	ae	45	39	ae	44
	pd	50		pd	54
18	ad	52	48	ad	50
	pe	51		pe	49
27	ae	47	53	ae	45
	pd	54		pd	51
Índice DI_1 ±Sm: 46,7 ± 1,7			Índice DI_2 ±Sm: 47,0 ± 1,6		

0,25* < 2,95** - NS

Índice DIi = Índices individuais de duração e intensidade
Índice $DI_{1 \text{ ou } 2}$ = Índices médios para as fases 1 ou 2 (n = 8)
Sm = Erro padrão da média
ad = região anterior direita
ae = região anterior esquerda
pd = região posterior direita
pe = região posterior esquerda
* = valor de t para a probabilidade p neste experimento
** = valor de t tabelado para a probabilidade p a nível de 1 por cento (0,01) com 14 graus de liberdade ($n_1 + n_2 - 2$) = (8 + 8 - 2)
NS = Não significante

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

T A B E L A VII

Duração e intensidade da anestesia subcutânea (em minutos) pela prilocaína a 3 por cento com felil - pressina a 2,16 µg por ml (0,12 UI/ml) em dorso de cobaio (volume por injeção: 0,15 ml) (GRUPO PF)

F A S E 1			F A S E 2	
Animal e Região		Índice DIi_1	Animal e Região	Índice DIi_2
06	ae	74	ae	66
	pd	78	pd	74
07	ad	75	ad	72
	pe	76	pe	79
22	ae	70	ae	67
	pd	72	pd	71
29	ad	65	ad	71
	pe	71	pe	76
Índice DI_1 ±Sm: 72,6 ± 1,4			Índice DI_2 ±Sm: 72,0 ± 1,4	
0,28* < 2,95** - NS				

Índice DIi = Índices individuais de duração e intensidade
Índices $DI_{1 \text{ ou } 2}$ = Índices médios para as fases 1 ou 2 (n = 8)
Sm = Erro padrão da média
ad = região anterior direita
ae = região anterior esquerda
pd = região posterior direita
pe = região posterior esquerda
* = valor de t para a probabilidade p neste experimento
** = valor de t tabelado para a probabilidade p a nível de 1 por cento (0,01) com 14 graus de liberdade $(n_1 + n_2 - 2) = (8 + 8 - 2)$
NS = Não significante

T A B E L A VIII

Duração e intensidade da anestesia subcutânea (em minutos) pela prilocaína a 3 por cento com felilpressina a 1,08 µg por ml (0,06 UI/ml) em dorso de cobaio (volume por injeção: 0,15 ml) (GRUPO PF_2)

FASE 1			FASE 2		
Animal e Região		Índice DIi_1	Animal e Região		Índice DIi_2
01	ae	73	35	ad	75
	pe	77		pe	79
11	ae	70	43	ae	71
	pd	75		pd	74
17	ad	68	47	ad	69
	pe	68		pe	72
24	ae	64	57	ae	66
	pd	66		pd	69
Índice DI_1 ±Sm: 70,1 ± 1,6			Índice DI_2 ±Sm: 71,8 ± 1,2		
0,85* < 2,95** - NS					

Índice DIi = Índices individuais de duração e intensidade
Índices $DI_{1 \text{ ou } 2}$ = Índices médios para as fases 1 ou 2 (n = 8)
Sm = Erro padrão da média
ad = região anterior direita
ae = região anterior esquerda
pd = região posterior direita
pe = região posterior esquerda
* = valor de t para a probabilidade p neste experimento
** = valor de t tabelado para a probabilidade p a nível de 1 por cento (0,01) com 14 graus de liberdade $(n_1 + n_2 - 2) = (8 + 8 - 2)$
NS = Não significante

T A B E L A IX

Duração e intensidade da anestesia subcutânea (em minutos) pela prilocaína a 3 por cento com felilpressina a 0,54 µg por ml (0,03 UI/ml) em dorso de cobaio (volume por injeção: 0,15 ml) (GRUPO PF_4)

F A S E 1			F A S E 2		
Animal e Região		Índice DIi_1	Animal e Região		Índice DIi_2
07	ae	75	37	ae	79
	pd	81		pd	84
10	ad	79	43	ad	76
	pe	85		pe	80
19	ae	73	51	ae	83
	pd	78		pd	78
26	ad	71	56	ad	77
	pe	79		pe	83
Índice DI_1 ±Sm: 77,6 ± 1,6			Índice DI_2 ±Sm: 78,7 ± 1,2		
0,52* < 2,95** - NS					

Índice DIi = Índices individuais de duração e intensidade
Índices $DI_{1 \text{ ou } 2}$ = Índices médios para as fases 1 ou 2 (n = 8)
Sm = Erro padrão da média
ad = região anterior direita
ae = região anterior esquerda
pd = região posterior direita
pe = região posterior esquerda
* = valor de t para a probabilidade p neste experimento
** = valor de $\bar{t}$ tabelado para a probabilidade p a nível de 1 por cento (0,01) com 14 graus de liberdade ($n_1 + n_2 - 2$) = (8 + 8 - 2)
NS = Não significante

T A B E L A X

Duração e intensidade da anestesia subcutânea (em minutos) pela prilocaína a 3 por cento com felilpressina a 0,27 µg por ml (0,015 UI/ml) em dorso de cobaio (volume por injeção: 0,15 ml) (GRUPO PF_8)

F A S E 1			F A S E 2	
Animal e Região		Índice DIi_1	Animal e Região	Índice DIi_2
04	ad	60	ae	61
	pe	67	pd	70
10	ae	66	ad	66
	pd	69	pe	67
14	ad	64	ae	58
	pe	70	pd	64
30	ae	68	ad	68
	pd	71	pe	71
Índice DI_1 ±Sm: 66,9 ± 1,2			Índice DI_2 ±Sm: 65,7 ± 1,5	
0,62* < 2,95** - NS				

Índice DIi = Índices individuais de duração e intensidade
Índices $DI_{1 \text{ ou } 2}$ = Índices médios para as fases 1 ou 2 (n = 8)
Sm = Erro padrão da média
ad = região anterior direita
ae = região anterior esquerda
pd = região posterior direita
pe = região posterior esquerda
* = valor de t para a probabilidade p neste experimento
** = valor de t tabelado para a probabilidade p a nível de 1 por cento (0,01) com 14 graus de liberdade $(n_1 + n_2 - 2) = (8 + 8 - 2)$
NS = Não significante

T A B E L A XI

Duração e intensidade da anestesia subcutânea (em minutos) pela prilocaína a 3 por cento com felilpressina a 0,135 µg por ml (0,0075 UI/ml) em dorso de cobaio (volume por injeção: 0,15 ml) (GRUPO PF_{16})

F A S E 1			F A S E 2		
Animal e Região		Índice DIi_2	Animal e Região		Índice DIi_2
02	ad	56	38	ae	53
	pe	63		pd	57
09	ae	58	42	ad	59
	pd	51		pe	68
31	ad	56	49	ae	60
	pe	56		pd	56
31	ae	48	55	ad	56
	pd	52		pe	60
Índice DI_1 ±Sm: 56,7 ± 1,7			Índice DI_2 ±Sm: 57,8 ± 1,0		

0,55* < 2,95* - NS

Índice DIi = Índices individuais de duração e intensidade
Índices $DI_{1 \text{ ou } 2}$ = Índices médios para as fases 1 ou 2 (n = 8)
Sm = Erro padrão da média
ad = região anterior direita
ae = região anterior esquerda
pd = região posterior direita
pe = região posterior esquerda
* = valor de t para a probabilidade p neste experimento
** = valor de t tabelado para a probabilidade p a nível de 1 por cento (0,01) com 14 graus de liberdade $(n_1 + n_2 - 2) = (8 + 8 - 2)$
NS = Não significante

2 - SEGUNDO ESTUDO - PRECISÃO

Verificou-se uma margem de erro inferior à esperada (10 por cento) para os percentuais dos limites de confiança, quanto aos valores dos índices DI, em todos os grupos experimentais (TABELA XII).

Exceto em dois grupos, onde foram utilizadas soluções anestésicas com adrenalina mais diluída (1,25 e 2,5 µg/ml), os percentuais ultrapassaram 50 por cento do limite convencionado para a significação estatística.

T A B E L A XII

Quadro geral dos índices de duração e intensidade da anestesia pela prilocaína a 3 por cento sem vasoconstritor e com adrenalina ou felilpressina em concentrações variadas, em dorso de cobaio (0,15 ml)

Grupos experimentais (concentrações de vasoconstritor: µg/ml)		Índices DI	Limites de confiança (LF)	LF%	Intervalo
P	(-----)	57	2,0	3,5*	55,0 a 59,0
PA	(20,0)	67	2,6	3,9*	64,4 a 69,6
PA_2	(10,0)	72	2,5	3,5*	69,5 a 74,5
PA_4	(5,0)	69	2,0	2,9*	67,0 a 71,0
PA_8	(2,5)	42	2,7	6,4*	39,3 a 44,7
PA_{16}	(1,25)	47	2,7	5,7*	44,3 a 49,7
PF	(2,16)	72	2,4	3,3*	69,6 a 74,4
PF_2	(1,08)	71	2,2	3,1*	68,8 a 73,2
PF_4	(0,54)	78	2,1	2,7*	75,9 a 80,1
PF_8	(0,27)	66	2,0	3,0*	64,0 a 68,0
PF_{16}	(0,135)	57	2,4	4,2*	54,6 a 59,4

Índices DI = Índices de duração e intensidade (em minutos)

LF = Limite de confiança (em minutos), a nível de 1 por cento, e 15 graus de liberdade ($n_1 + n_2 - 1$)

LF% = Percentual do limite de confiança.

* = Significante, se o LF% não ultrapassar a 10 por cento do DI correspondente.

3 - TERCEIRO ESTUDO - FIDEDIGNIDADE

a - INFLUÊNCIA DA ADRENALINA

A adrenalina influenciou significativamente a duração e a intensidade da anestesia pela prilocaína, em todas as concentrações utilizadas (TABELA XIII e GRÁFICOS 1 e 2).

Em resposta à escala de concentrações pesquisadas, observou-se uma inversão do efeito anestésico, reduzindo significativamente os valores dos índices DI em relação ao controle, com as concentrações mais baixas (1,25 e 2,5 µg/ml). Nas duas concentrações seguintes da escala logarítmica (5 e 10 µg/ml), observou-se o efeito esperado, com aumento significativo, embora não linearmente correlacionado. A maior concentração (20 µg/ml) apesar de manter o efeito de aumentar o índice DI significativamente, não o fez com a mesma intensidade, sofrendo uma redução de cerca de 10 por cento em relação ao efeito máximo.

b - INFLUÊNCIA DA FELILPRESSINA

A felilpressina influenciou, mas de modo diferente da adrenalina, os parâmetros duração-intensidade da anestesia pela prilocaína (TABELA XIII e GRÁFICOS 1 e 2).

Em sua concentração mais baixa (0,0075 µg/ml), não exerceu influência sobre o índice DI, que coinci

diu com o obtido no grupo controle.

A partir dessa concentração, todos os aumentos observados, foram significativos.

Repetindo o que ocorreu com a adrenalina, o aumento máximo observado foi com uma concentração intermediária (0,03 UI/ml); o duplo e o quádruplo desta concentração (0,06 a 0,12 UI/ml) causaram respostas iguais entre si, mas menos pronunciadas. Quando ocorreram aumentos, estes foram linearmente correlacionados com as concentrações, o que não se observou com a adrenalina.

Outro aspecto diferencial entre esses dois vasoconstritores quando associados à prilocaína, foi o fato de que, com o polipeptídeo, não houve a inversão de efeito observada com a catecolamina.

T A B E L A XIII

Influência da concentração de adrenalina sobre a duração e intensidade da anestesia (Índice DI) subcutânea pela prilocaína a 3 por cento em dorso de cobaio

Grupos experimentais (concentrações de adrenalina em µg/ml		Índices DI (duração e intensidade)	Percentual de variação	F (1%) (2,47)
P (controle)	(0)	57	0%	----
PA	(20,00)	67	+17%	39,2*
PA_2	(10,00)	72	+26%	91,7*
PA_4	(5,00)	69	+21%	52,6*
PA_8	(2,50)	42	-26%	83,7*
PA_{16}	(1,25)	47	-18%	38,7*

Índice DI = duração e intensidade em minutos

Percentual de variação: Variação no valor dos DI, induzidas por diferentes concentrações de adrenalina

F = Valor de F a nível de 1 por cento, com 30 graus de liberdade, significante se for maior que 2,47 (valor tabelado).

* = Significante.

T A B E L A XIV

Influência da concentração de felilpressina na duração e intensidade da anestesia subcutânea (índices DI) pela prilocaína a 3 por cento em dorso de cobaio

Grupos experimentais (concentrações de felilpressina em µg/ml		Índices DI (duração e intensidade)	Percentual de variação	F (1%) (2,47)
P (controle)	(0)	57	0%	----
PF	(2,16)	72	+26%	96,9*
PF_2	(1,08)	71	+25%	7,4*
PF_4	(0,54)	78	+37%	110,1*
PF_8	(0,27)	66	+16%	40,4*
PF_{16}	(0,135)	57	0%	0 ns

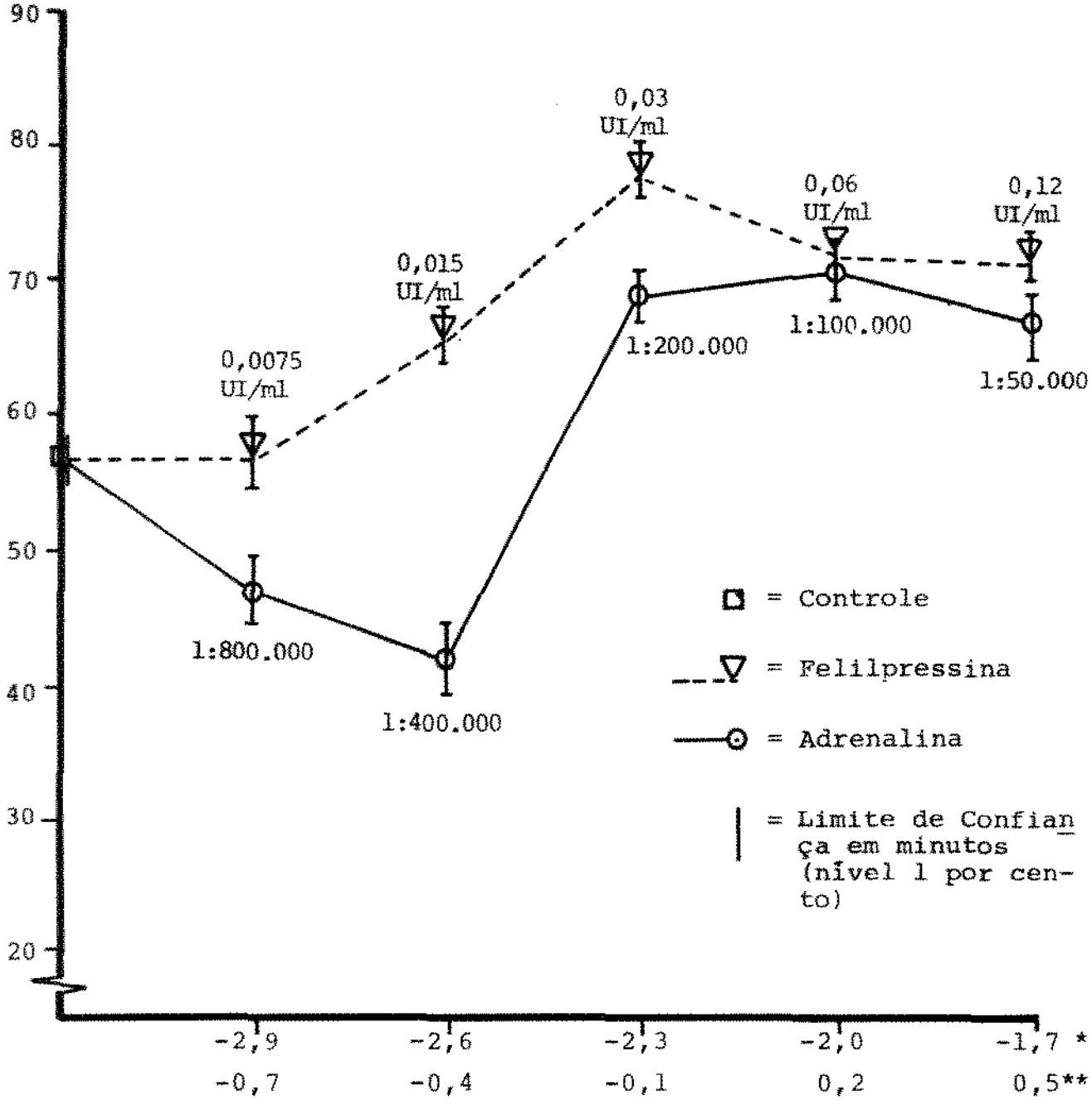
Índices DI = Índice de duração e intensidade em minutos

Percentual de variação = Variação no valor dos DI, induzidas por diferentes concentrações de felilpressina

F = Valor de F a nível de 1 por cento, com 30 graus de liberdade

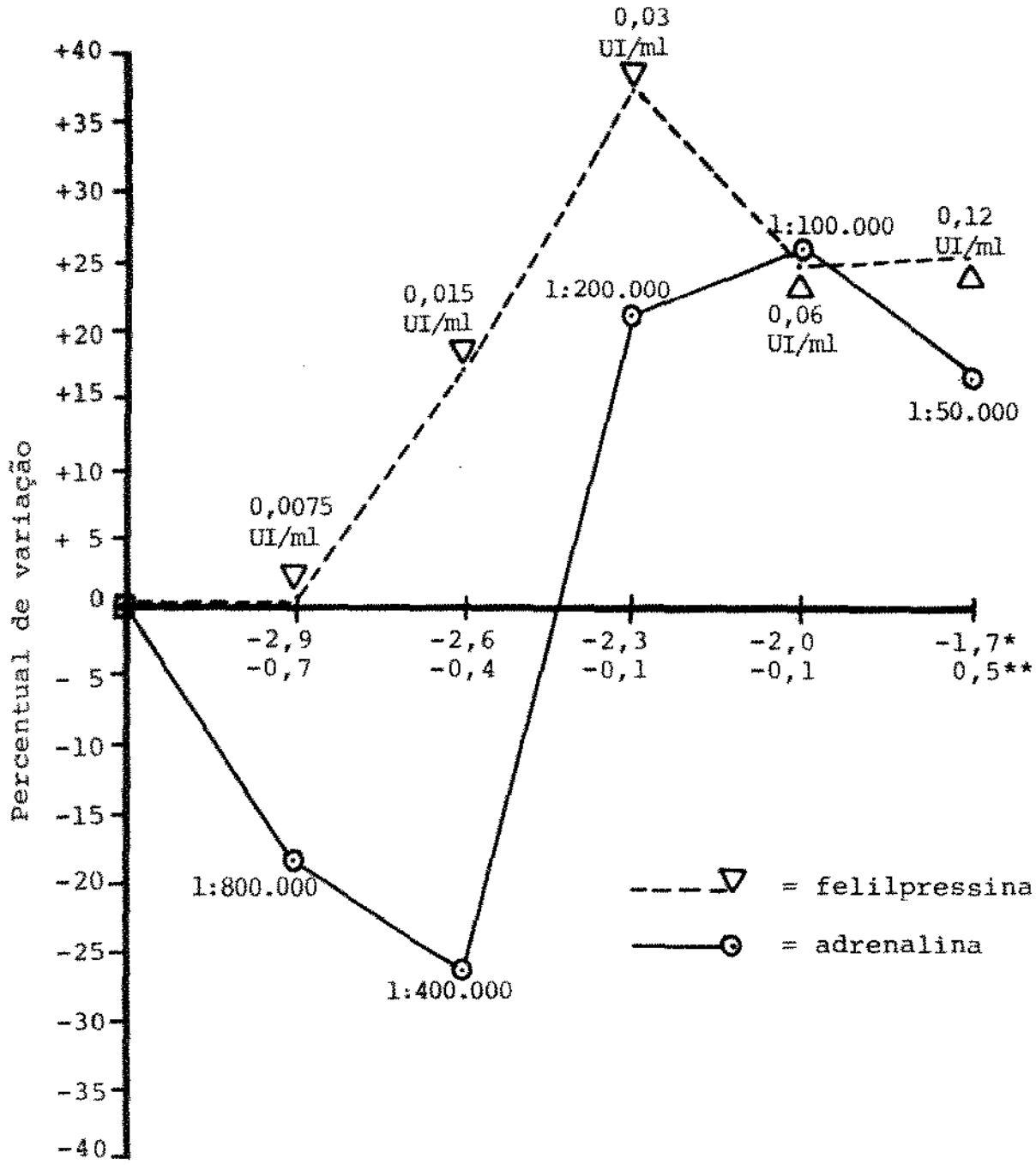
* = Significante

ns = Não significante



* = felilpressina
** = adrenalina
ABCISSAS - Log dose
ORDENADAS - Índice DI (duração e intensidade em minutos)

GRÁFICO 1 - Influência da adrenalina e da felilpressina sobre a duração e intensidade da anestesia pela prilocaína a 3 por cento em dorso de cobaio (volume : 0,15 ml)



* = felilpressina

** = adrenalina

ABCISSAS = Log dose

ORDENADAS = Percentual de variação em relação ao controle 0 (zero)

GRÁFICO 2 - Variação percentual na duração e intensidade da anestesia subcutânea pela prilocaína a 3 por cento em dorso de cobaio, induzida por concentrações logarítmicas de adrenalina e felilpressina

IV - D I S C U S S Ã O

Os testes quantitativos com anestésicos locais, em dorso de cobaio, são conhecidos há mais de 50 anos, e sempre foram bastante utilizados.

Do modo como esse tipo de experimentação vinha sendo conduzido, a facilidade de execução e a economia proporcionadas eram evidentes, compensando, sob certos aspectos, os resultados pouco consistentes obtidos, mesmo com acurada atenção e adestramento exigidos do experimentador.

O entusiasmo inicial com os trabalhos de BÜLBRING & WAJDA (1945), levou o pesquisador a encarar o problema de modo simplista.

Com esta concepção, e a vontade de firmar certos conceitos sobre uma possível interação do trinômio anestésico - adrenalina-vasopressina (WATERSON, 1975), iniciaram-se os experimentos.

Os primeiros resultados, entretanto, trouxeram uma grande variabilidade nas respostas a uma mesma solução anestésica. Os valores quantitativos frequentemente não se reproduziram, em dois ou mais experimentos, com diferenças que pudessem ser atribuídas somente à variação biológica; não suportavam a uma análise estatística, mesmo em níveis de significância de duvidosa validade sob o aspecto farmacodinâmico.

A essa vivência inicial, foi acrescentada a formação proporcionada pelo estudo analítico e comparativo de trabalhos básicos (GASSER & ERLANDER, 1929; ADRIANI, 1960; SCHOU, 1961; LUDUENA, 1969; GOODMAN & GILMAN, 1978; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1974; NEDER, 1976), ou de pesquisa (RIDER, 1930; SINHA, 1936; SIEVERS & McINTYRE, 1937; SINHA, 1939; LESER, 1940; CHANCE & LOBSTEIN, 1944; BÜLBRING & WAJDA, 1945; LUDUENA, 1969; REYNOLDS, 1976), trazendo a necessidade de desenvolver-se a metodologia referida.

Identificados os pontos possivelmente falhos, até então, foram estudadas e treinadas, padronizações, segundo critérios já estipulados, e novos critérios assimilados, resultando no método utilizado neste trabalho.

Em oposição aos métodos precursores, é falsa a impressão inicial de dificuldade, imprimida, talvez pelo detalhamento minucioso da técnica experimental.

Existem razões para acreditar-se que, principalmente da atenção dispensada a aspectos aparentemente pouco importantes, resultaram os dados experimentais desta pesquisa.

Os critérios de seleção dos animais, o processo de tricotomia e a utilização de uma câmara para a contenção do animal na realização das injeções, podem ter sido pontos importantes na padronização do método. Contudo, pareceram mais consistentes, quanto a esse aspecto, os processos e técnicas de administração e verificação do efeito anestésico.

É amplamente relatado o fato de que a sensibilidade varia consideravelmente em diferentes regiões do dorso do cobaio, e que, por esta razão, o efeito anestésico é variável. McINTYRE & SIEVERS (1937); BÜLBRING & WAJDA (1945); LUDUENA (1960), ao lado dessas afirmativas, relatam diferentes modos de alterar os controles, em relação às regiões anterior e posterior, visando reduzir a variabilidade em torno de um único valor médio. Entretanto, embora indiquem o modo como foi determinada a área de ação de uma certa injeção de anestésico, delimitando com tinta o contorno da bolha, não mostram como foram escolhidos os 6 pontos de teste dentro dessa área, que pode variar em extensão e forma, segundo o modo de aplicação e a natureza da solução.

Aceitando-se que o anestésico se difunde segundo gradientes de concentração, e que ao alcançar o tecido nervoso, provoca um bloqueio "tudo ou nada" dependente de certa concentração mínima, e que a concentração decresce progressivamente, em todos os sentidos, a partir de um centro de difusão que, coincide com o centro da bolha (ADRIANI, 1960), é difícil crer que resultados precisos possam ser alcançados com testes de intensidade variável, e em pontos escolhidos aleatoriamente, dentro de áreas irregulares e de dimensões variadas.

Na metodologia proposta aqui, todas essas variáveis foram controladas, e os resultados confirmaram a hipótese levantada pelo pesquisador, ao conceber este trabalho, de que a grande variabilidade observada em experimentos com anestesia local no dorso do cobaio, relaciona-se menos à variação individual, do que à metodologia utilizada ou ao modo como ela é aplicada.

Não foi computado aos resultados um tipo de dado experimental, devido a um registro incompleto (ver página 38, campos 9 e 10, e Figura 2, página 34), que só posteriormente foi identificado como um argumento de difícil contestação, em favor da propriedade das padronizações efetuadas, principalmente em relação ao método de testes. *Na quase totalidade das 176 áreas testadas, a recuperação da sensibilidade ocorreu de modo semelhante, ocorrendo quase na mesma seqüência de pontos, iniciando-se pelos pontos números 1 ou/e 3 nas regiões anteriores, e terminando de modo variável, mas sempre com o número 4 e/ou 8 presentes na última série de testes; nas regiões posteriores, em todos os testes, o ponto número 3 esteve presente no início da recuperação e o número 4 no fim.* A simples comparação entre esses fatos com o que já se sabia quanto a duração e intensidade da anestesia no dorso do cobaio, da uma idéia da propriedade da padronização, quanto ao modo de se verificar a sensibilidade.

A concepção do índice DI, parece ser outra contribuição útil deste trabalho. A coincidência numérica entre a quantidade de estímulos em cada série, e o espaço de tempo entre as séries, até a completa recuperação da sensibilidade, oferece vantagens interessantes, que permitem qualificá-lo como novo:

a - Pela facilidade na obtenção, dispensando cálculos adicionais;

b - Por expressar simultanemante, dois parâmetros cuja correlação tem notável aplicação, tanto prática como científica, com um único valor, e na unidade de medida mais apropriada, pois mede, em minutos, a duração da anestesia completa e parcial (período de recuperação), em uma determinada área.

Permite-se sugerir a viabilidade do ajuste, dentro de certos limites, da correlação intervalo-número de estímulos, conforme as conveniências, o que confere ao índice DI uma elasticidade, que possivelmente pode ser útil em experimentos semelhantes, com soluções anestési - cas de diferentes graus de efetividade.

Embora preservando-se os objetivos propostos, este experimento não se realizou como foi inicialmente pla nejado; os três parâmetros de adequação metodológica visados, seriam testados em conjunto, em apenas uma fase experimental. Entretanto, em razão de dois resultados vistos como extravagantes (com adrenalina a 1:800.000 e 1:400.000), e da precisão, considerada então como excessiva, decidiu-se pela réplica do experimento, colocando-se em xeque: a) a confiabilidade nas drogas precursoras das soluções; b) os cálculos e a elaboração dessas soluções; c) os padrões de reatividade dos animais, altamente controlados, quanto à linhagem e à criação.

Na segunda fase experimental, realizada com o propósito de contestar os resultados da primeira, novas drogas, soluções e animais foram utilizados, obtendo-se os mesmos resultados.

A refutação da réplica levantada, como provaram os resultados obtidos, conferiu alto grau de confiabilidade a esses resultados.

Comparando-se os índices DI obtidos com a felilpressina e com a adrenalina, dentro dos respectivos grupos,e entre um e outro, pode-se observar que:

a - Com a felilpressina, os resultados obtidos concordam, na íntegra, com a literatura. A concentração de 0,03 UI/ml como fulcro de potência quando associada à prilocaína, obtido neste experimento, é idêntico ao obtido por outros autores (KLINGENSTRÖM & WESTERMARK,1963; GOLDMAN et alii, 1967; COWAN, 1969);

b - Não ocorreu uma relação dose-resposta regular com a adrenalina, concordando com os achados de GOLDMAN et alii (1967);

c - COWAN (1965),encontrou grande diferença de ação da adrenalina associada a prilocaína, com pequenas alterações na concentração, entre 1:300.000 e 1:200.000 - (3,33 e 2,5 µg/ml), reafirmando ser delicado o mecanismo de ação dessa mistura de anestésico e vasoconstritor. Neste experimento, a concentração de 1:300.000 não foi utilizada, mas pode-se ver claramente nos gráficos, que ela se encontra no intervalo logarítmico de maior efetividade;

d - Não se encontrou na literatura a utilização de concentrações superiores a 1:100.000 para a adrenalina combinada à prilocaína, mas é de conhecimento geral que, atingida a duração máxima,o aumento da dose de adrenalina tende a reduzir a duração, em virtude do aumento do consumo de oxigênio,levando à acidose local, responsável por vasodilatação e aumento da absorção. Neste experimento, ocorreu a redução na duração, em resposta às doses mais elevadas, embora não se tenha condições de afirmar se foi este o mecanismo envolvido;

e - A significativa redução dos índices DI com as menores

concentrações utilizadas não encontrou amparo na bibliografia. Entretanto, cabe a discussão de certos achados anteriores, cujo conhecimento pode contribuir para uma reflexão sobre o assunto. KEESLING (1963), afirmou: "Uma concentração de adrenalina a 1:750.000 parece encurtar a duração da anestesia pela lidocaína, mantendo porém a intensidade". LUDUENA (1960), estudando a influência de uma escala de dosagens de adrenalina bem próxima à utilizada neste experimento, encontrou maior duração da anestesia pela propoxicaína (RAVOCAÍNA^{R}) com a concentração de 1:800.000 do que a 1:400.000. Embora não ocorresse no referido experimento, efeitos mais baixos que o controle, foi evidente a redução da duração com a duplicação da concentração, fato estranho naquela faixa de concentrações, praticamente inefetivas.

Como na literatura é difícil encontrar-se em experimentos semelhantes, uma escala de concentrações tão extensa, e como cada anestêsico se comporta de um modo peculiar frente aos vasoconstritores, sugere-se testes comprobatórios para os resultados aqui obtidos, no dorso do cobaio.

Considerando-se a coerência da maioria dos resultados, entre si e comparando-se com a literatura,com os cuidados experimentais, e com o baixo erro em geral,admite-se que todos os resultados reflitam a realidade experimental.

V - R E S U M O E C O N C L U S Õ E S

Neste trabalho, realizado em duas etapas independentes, embora iguais, foi estudada a padronização de uma metodologia que quantifica a intensidade e a duração da anestesia subcutânea, em dorso de cobaio.

O parâmetro capaz de modificar a efetividade do anestésico, utilizado, para testar a reprodutibilidade, a precisão e a fidedignidade do método proposto, foi o efeito dos vasoconstritores adrenalina e felilpressina (OCTAPRESSIN^{R}), numa escala logarítmica de concentrações (log intervalo 0,3), sobre a anestesia causada pela prilocaína (CITANEST^{R}) a 3 por cento.

A verificação quantitativa foi realizada pelos índices DI (concebidos neste trabalho), capazes de, com um único valor em minutos, expressar a duração da anestesia útil, isto é, o efeito desde a administração, até a completa recuperação da sensibilidade.

O método consistiu na administração padronizada de injeções subcutâneas de 0,15 ml, de duas soluções diferentes, em quatro locais padronizados da região dorsal de cada animal, de tal modo distribuídas, que uma mesma solução era testada na região anterior e posterior.

A verificação da anestesia foi feita em 6 pontos, simetricamente distribuídos dentro de uma área circular de 2 cm de diâmetro, demarcada no centro de cada zona anestesiada. As séries de 6 testes foram aplicadas

a cada 6 minutos, até a completa recuperação, registrando-se a cada série, o número de pontos insensíveis. Essa média de 1 ponto por minuto, permitiu a extrapolação direta, sem cálculos adicionais: 1 ponto insensível = 1 minuto de duração = índice DIi (índice individual de duração e intensidade). A média aritmética de diversos índices individuais é o índice DI.

A *reprodutibilidade* do método foi verificada, comparando-se, para cada uma das 11 soluções utilizadas, os índices DI (DI_1 e DI_2) obtidos em duas fases experimentais, espaçadas em aproximadamente 40 dias, que diferiram apenas quanto à padronização dos animais.

Os índices DI obtidos na fase 1, foram estatisticamente iguais, a nível de significância de 1 por cento (teste t) aos índices da fase 2, para todas as soluções utilizadas.

A *precisão* do método foi testada pela medida da variabilidade em torno do DI (média de 16 experimentos Fase 1 + Fase 2) para cada solução, não se mostrando significante (LF por cento, a nível de 1 por cento), para todas as soluções utilizadas.

A verificação da *fidedignidade* do método foi feita pelo estudo da relação dose-resposta, da prilocaína associada à adrenalina e à felilpressina, tendo a prilocaína sem vasoconstritor como controle, estimando-se a significância da influência do vasoconstritores pela análise de variância (1 por cento). Os resultados mostraram que:

a - Todas as concentrações de felilpressina aumentaram o índice DI significativamente, exceto a de 0,0075 UI/ml, que não exerceu influência alguma.

b - A concentração mais elevada de felilpressina (0,03 UI/ml) aumentou o índice DI mais que todas as concentrações utilizadas, inclusive as de adrenalina. Entretanto, o duplo e o quádruplo dessa concentração (0,06 e 0,12 UI/ml) mostraram efeitos iguais entre si, porém, mais reduzidos.

c - Nenhuma das concentrações de adrenalina utilizadas deixou de influenciar significativamente o índice DI, embora de modo menos regular que a felilpressina.

d - As três maiores concentrações de adrenalina (1:200.000, 1:100.000 e 1:50.000), tiveram efeito semelhante, embora um pouco maior para a de 1:100.000.

e - Nas concentrações mais diluídas (1:800.000 e 1:400.000), houve inesperada redução de efeito em relação ao controle, linear e diretamente relacionada à concentração.

f - Na escala de dosagens utilizada, com a duplicação sucessiva de concentrações, com ambos os vasoconstritores, só duas concentrações se mostraram efetivas em aumentar o índice DI em relação à concentração anterior, o que indica uma faixa muito estreita de doses efetivas. Não se demonstrou uma relação linear dose-resposta com ambos os vasoconstritores, na escala de concentrações utilizada.

Em geral, esses resultados concordam com a literatura, demonstrando a fidedignidade do método; carece, entretanto, confirmar-se a inesperada inversão de efeito da adrenalina em concentrações reduzidas, sobre a anestesia pela prilocaína no dorso do cobaio.

VI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADRIANI, J. Selection of anestesia. Springfield, Ill, Charles C. Thomas, publisher, 1955.

ADRIANI, J. The clinical pharmacology of local anesthetics. Clin. pharm. Ther., 1(5):645, 1960.

ALBERT, J. & LÖFSTRÖM, B. Effects of epinephrine in solutions of local anesthetic agents. Acta. anaesth. Scand., Suppl. 16:71, 1965.

ÅKERMAN, B. On felylpressin (Octapressin^{R}) as an adjunct to lidocaine and prilocaine - an experimental study in animals. Acta pharmac. tox., 24:377, 1966.

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., 119:258, 1965.

AMERICAN DENTAL ASSOCIATION - Council on Dental Therapeutics. Aspted dental Remedies, 1962, Am. Dent. Ass., publisher, 1962.

AUERBACH, M.E.; DAVIS, D.L.; FOLDES, F. Micromethod for colorimetric determination of tetracaine. Fed. Proc., 11: 319, 1952.

BARLOW, R.B. Chemical Pharmacology. New York, John Wiley & Sons, Inc., 1955.

BARTLET, F.Z. Clinical observations on the effects of injection of local anesthetics, preceded by aspiration. Oral Surgery, Oral Medicine & Oral Pathology, 33:520, 1972.

BENNET, C.R. Manheim's local anesthesia and pain control in dental practice, 5ª ed., St. Louis, The C.V. Mosby Co., 1974.

BERDE, B.; BOISSONAS, R.A.; HUGHENIN, R.L.; STURMER, E. Vasopressin analogues with selective pressor activity. Experientia, 20:42, 1964.

BERLING, C. Octapressin® as a vasoconstrictor in dental plexus anaesthesia. Odont. Rev., 17:369, 1966.

BEUTNER, R. Vasodilating action of some local anesthetics. Anesth. Analg., 27:197, 1948.

BROSA, M.F. Soluciones anestésicas locales, efectos secundários y toxicidad. Anu. Esp. Odontostomat., 34:511, 1975.

BROWN, G. The influence of adrenaline, noradrenalina, vasoconstritors on the efficiency of lidocaine. J. oral Ther. Pharm., 4:398, 1968.

BROWN, G. Prilocaine-felylpressin dental anaesthesia (A preliminary study). J. oral Ther., 4:439, 1968.

BÜLBRING, E. & WAJDA, I. Biological comparison of local anesthetics. J. Pharmacol. exp. Ther., 85:78, 1945.

CHANCE, M.R. & LOBSTEIN, H. The value of the guinea-pig corneal reflex for tests of surface anaesthesia. J. Pharmacol. exper. Thera., 82:203, 1944.

CHILTON, N.W. & TRENTON, N.J. Clinical evaluation of prilocaine hydrochloride 4% solution with and without epinephrine. J. Am. dent. Ass., 83:149, 1971.

COHEN, E.N. & KNIGHT, R.P. Hydrogen in concentration to spinal anesthetic failures. Anesthesiology, 8:594, 1947.

COWAN, A. Minimun dosage technique in the clinical comparison of representative modern local anesthetic agents. Dent. Res., 43:1228, 1964.

COWAN, A. A comparison of the two ultrashort duration - anesthetic agents. J. dent. Rev., 44:13, 1965.

CURTIS, M.B.; GORES, R.J.; OWEN, C.A. The effect of certain hemostatic agents and the local use of diluted - epinephrine on bleeding during oral surgery. Oral Surgery, oral Medicine & oral Pathology, 21:143, 1966.

EPSTEIN, S. Clinical study of prilocaine with varying concentrations of epinephrine. J. Am. dent. Ass., 78: 88, 1969.

ERHENBERG, L. Time-concentration curve of local anesthesia. Acta chem. Scand., 2:63, 1948.

EGGLESTON, C. & HATCHER, A.A. A further contribution to the pharmacology of the local anesthetics. J. Pharma - col. exp. Ther., 13:43, 1919.

EVEN, M.H.; LIGHT, A.; FOLDES, F.F. Hydrolysis of procaine in various mammalian plasma. Fed. Proc., 12:299, 1953.

FOLDES, F.F.; DAVIS, D.L.; PLEKSS, O.J. Influence of halo gen substitution on enzimatic hydrolysis. Anesthesiolo gy, 17:187, 1956.

GANGAROSA, L.P. & HALIK, F.J. Clinical evaluation of local anesthetic solutions containing grade epinephrine con - centrations. Arch. oral. biol., 12:611, 1967.

GASSER, H.S. & ERLANDER, J. Role of size in stablishment of nerve block by pressure or cocaine. Br. dent. J., 115:59, 1963.

GOLDMAN, V.; KILLEY, H.C.; WRIGHT, H.C. Effects of local analgesic agents and vasoconstrictors on rabbits ear. Aust. dent. J., 12:460, 1967.

GOLDMAN, V. & GRAY, W. A clinical trial of a new local anesthetic, propitocaine, with lidocaine. Br. Dent. J., 115:59, 1963.

GOLDMAN, V. Prilocaine felylpressin: a new combination - for dental analgesia. Dent. Pract. (Bristal), 19(7): 225, 1969.

GOODMAN, L.S. & GILMAN, A. As bases farmacológicas da terapêutica. 5ª ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1978.

HALSE, A. Effect on operative blood loss by adding a vasoconstrictor to local anesthetic solution. Acta. odont. Scand., 28:179, 1970.

HARRIS, S.C. Aspiration before injection of dental local anesthetics. J. oral Surg., 15:299, 1952.

HIRSCHFELDER, A.D. & BIETER, R.N. Local anesthetics. Physiol. Rev., 12:190, 1932.

JAQUENOUD, P.A. & BOISSONAS, R.A. Sinthèse de la Phe-2--oxytocin. Helv. chim. Acta., 42:788, 1959.

JUNQUEIRA, L.C. & CARNEIRO, J. Histologia básica, 3ª ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1974.

KATO, G. On excitation, conduction and narcotization of single nerve fibres. Cold Spring Harbor Symposium. Cenant. Biol., 4:202, 1936.

KLINGENSTRÖM, P. & WESTERMARK, L. Local effects of adrenaline and phenyllalanyllysil-vasopressin in local anaesthesia. Acta. anaesth. Scand., 7:131, 1963.

KNOEFFEL, P.K.; HERWICK, R.P.; LEVENHART, A.S. The prevention of acute intoxication from local anesthetics. J. Pharmacol. exp. Ther., 39:397, 1930.

KEESLING, R.G. Optimal concentration of epinephrine in lidocaine solutions. J. Am. dent. Ass., 66:337, 1963.

LESER, A.J. The effect of quantity on the duration of local anesthesia, determined by a new test. J. Pharmacol. exp. Ther., 68:389, 1940.

LUDUENA, F.P. Effect of some vasoconstrictors on intradermal anesthesia. J. dent. Res., 35(5):947, 1960.

LUDUENA, F.P. Duration of intradermal anesthesia. Ann. rev. Pharmacol., 9:503, 1969.

McINTYRE, A.R. & SIEVERS, R.F. The toxicity and anesthetic potency of some alkoxy benzoates and related compounds. J. Pharmacol. exp. Ther., 61:107, 1937.

MOORE, D.C. Complications of regional anesthesia. 1ª ed., Illinois, Charles C. Thomas, 1955.

NEDER, A.C. Farmacoterapia para cirurgiões dentistas. 5ª ed., Piracicaba, Editora Franciscana, 1976.

NEDER, A.C.; ARRUDA, J.V.; ARBEX, S.T.; GARLIPP, O.F.; BENATI, O.; GAMA, M.L.G.; RANALLI, J. Uma nova solução - anestésica em odontologia. Quintessência, 3(9),1976.

NEDER, A.C. & GAMA, M.L.G. A influência do pH nas soluções de lidocaína na anestesia local de regiões com inflamações. Quintessência, 10(3):61, 1976.

NEDER, A.C. & ARRUDA, J.V. Anestesiologia Odontológica. 1ª ed., Piracicaba, Artes Médicas, 1977.

PETERSEN, J.K.; LUCK, H.; KRISTENSEN, F.; MIKELSEN, L. A comparison of four commouly used local analgesics. Int. J. oral Surg., 6:51, 1977.

REYNOLDS, F.; BRYSON, T.H.L.; NICHOLAS, A.D.G. Intradermal study of a new local anesthetic agent: propitocaine. Br. J. Anaesth., 48:347, 1976.

RIDER, T.H. The testing of local anestehtic. J. Pharm. exp Ther., 39:329, 1930.

SADOVE, M.S.; WYANT, G.M.; GITTELSON, L.A.; KRETCHNER, H.E. Classification and managenent of reactions to local anesthetic agents. J. Am. med. Ass., 148:17, 1952.

SANDOZ LABORATORIES. The site of action of vasoconstrictor substances with the vascular bed of the microcirculation. Triangle, 7:77, 1965.

SELDIN, H.M. & RECANT, B.S. The saffety of anesthesia in dental office. J. oral Surg., 13:199, 1955.

SIEVERS, R.F. & McINTYRE, A.R. The toxicity and anesthetic potency of some new benzoil derivates. J. Pharmac. exp. Ther., 62:252, 1938.

SINHA, H.K. The local anaesthetic actions of certain pyrazoline and quinoline compounds. J. Pharm. exp. Ther., 57(3):199, 1936.

SINHA, H.K. Factors influencing the duration of local anaesthesia. J. Pharm. exp. Ther., 66:42, 1939.

SCHIANO, A.M. & STRAMBI, R.C. Frequency of accidental intravascular injection of local anesthetic agents. Oral Surgery, oral Medicine and oral Pathology, 17(2):178, 1964.

SCHOU, J. Absorption of drugs from subcutaneous connective tissue. J. Pharmac. Rev., 13:441, 1961.

STEINHAUS, J.F. A comparative study of the experimental - toxicity of local anesthetic agents. Anesthesiology, 13:1577, 1952.

TAINTER, M.L. Summary of studies on the optimal composi - tion of local anesthetic solutions. Anesthesiology, 2: 489, 1941.

TOMLIN, P.J. Death in outpatient dental practice. Anaesthesia, 29:551, 1974.

TOMLIN, P.J. Death in outpatient dental practice. Anaesthesia, 30:96 and 239, 1974.

WALTHER, R.; RUDINGER, J.; SCHWARTZ, I.L. Chemistry and structure-activity relations of the antidiuretic hormones. Am. J. Med., 42:653, 1967.

WATERSON, J.G. Vasoconstriction by ornithine-vasopressin in the rabbit ear. J. dent. Res., 49(3):659, 1970.

WATERSON, J.G. Potentiation of vascular response to catecholamine, by POR-8. J. dent. Res., 54: spec. iss,., B, B-63, 1975.

WOLLENBERGER, A. & KRAYER, O. Experimental heart failure caused by central nervous system depressants and local anesthetics. J. Pharm. exp. Ther., 94:439, 1948.

ZANINI, A.C. & OGA, S. Farmacologia aplicada. São Paulo, Atheneu Editora, 1979.