

*Este exemplar foi
devidamente corrigido
conforme
c.c.P.G. 1036/83
Piracicaba, 05 de setembro
de 1996*

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

IRIA MARISA GEVARTOSKY DO AMARAL

BIOMÉDICA

**ESTUDO DA TOXICIDADE AGUDA DA
LIDOCAÍNA E PRILOCAÍNA, QUANDO ADMINISTRADAS
EM ASSOCIAÇÃO COM DOIS VASOCONSTRICTORES
(NORADRENALINA E FELIPRESSINA)**

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

Piracicaba - S.P.
1996

Am13e
29011/BC

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

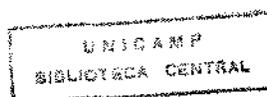
ÍRIA MARISA GEVARTOSKY DO AMARAL
BIOMÉDICA

**ESTUDO DA TOXICIDADE AGUDA DA
LIDOCAÍNA E PRILOCAÍNA, QUANDO ADMINISTRADAS
EM ASSOCIAÇÃO COM DOIS VASOCONSTRITORES
(NORADRENALINA E FELIPRESSINA)**

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

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

Piracicaba - S.P.
1996



UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	71012101
V.	Am. 13e
TÍTULO (CDD)	29011
PRUC.	667/96
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	05/11/96
N.º CPD	

CJM 00894470-8

Ficha Catalográfica Elaborada pela Biblioteca da FOP/UNICAMP

A13e

Amaral, Íria Marisa Gevartosky do.

Estudo da toxicidade aguda da lidocaína e prilocaína, quando administradas em associação com dois vasoconstritores (noradrenalina e felipressina) / Íria Marisa Gevartosky do Amaral. - Piracicaba : [s.n.], 1996.

66f. : il.

Orientador : José Ranali.

Tese (Doutoramento) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Anestesia local. 2. Vasoconstritor. 3. Drogas - Toxicidade. I. Ranali, José. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

19.CDD - 615.781

- 615.9

Índices para o Catálogo Sistemático

- | | |
|------------------------|---------|
| 1. Anestesia local | 615.781 |
| 2. Vasoconstritor | 615.9 |
| 3. Drogas - Toxicidade | 615.9 |



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de Doutorado, em sessão pública realizada em 28/08/96, considerou o candidato aprovado.

1. José Ranali

2. Eduardo Dias de Andrade

3. Pedro Luiz Rosalen

4. Rodney Garcia Rocha

5. João Gualberto de Cerqueira Luz

A meus pais, HEITOR e ERMÍNIA que
me proporcionaram a oportunidade de
renascer e caminhar com meus próprios
pés.

A meu marido RENATO e a meus filhos
CAMILA e KADU que, pacientemente ,
respeitaram as minhas ausências do lar.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. JOSÉ RANALI, pela orientação segura deste trabalho;

À Prof^a. Dra. MARIA CRISTINA VOLPATO, pela colaboração inestimável durante todas as fases de desenvolvimento deste estudo;

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

Aos Professores da Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica, CRISTINA, EDUARDO, FRANCISCO, PEDRO e THALES, pela competência, amizade e incentivo.

Às Prof^{as}. Dra. CLARICE GARCIA BORGES DEMÉTRIO, do Departamento de Matemática e Estatística da ESALQ/USP e LICIANA VAZ DE ARRUDA SILVEIRA CHALITA, do Departamento de Bioestatística do IB/UNESP - Botucatu, e aos alunos de doutorado FRANCISCO, GUILHERME, PRISCILA, SÉRGIO e SÍLVIA, da Área de Estatística e Experimentação Agronômica da ESALQ/USP, pela análise estatística dos resultados;

À Prof^a. WADED ANTONIO, pela correção do texto;

À Sr^a. TONI THOMSON, pela correção do resumo em inglês;

À Sr^a. SUELI DUARTE DE OLIVEIRA SOLIANI, diretora técnica da biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela correção das referências bibliográficas;

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

À Sr^a. MARIA ELISA DOS SANTOS, secretária da Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica, pela sua eficiência, bondade, amizade e dedicação;

À Sr^a. ANA MARIA COSSA DE ARRUDA OLIVEIRA, secretária do CPG, pela sua amizade, solicitude e serviços prestados;

Ao Sr. RENATO PFAFF DO AMARAL, pelos competentes serviços de digitação deste trabalho;

À Sr.^a LUCIANA SEGATTI GEVARTOSKY, pela ajuda na tradução dos textos em inglês;

À CRISTÁLIA PRODUTOS QUÍMICOS E FARMACÊUTICOS LTDA, pela preparação das soluções anestésicas utilizadas neste trabalho;

Ao CNPq, pelo apoio financeiro (Bolsa de Estudos) prestado, que foi de suma importância na elaboração deste trabalho;

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

SUMÁRIO

	página
1. LISTAS.....	1
1.1. Lista de tabelas, gráficos e quadros.....	1
1.2. Lista de abreviaturas.....	5
2. RESUMO.....	6
3. INTRODUÇÃO.....	8
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	10
4.1. Revisão Sobre Anestésicos Locais	10
4.2. Revisão Sobre Vasoconstritores	12
4.3. Revisão sobre Associação de Vasoconstritores	18
5. PROPOSIÇÃO	23
6. MATERIAL E MÉTODOS	24
6.1. Estudo da Dose Letal (DL ₅₀) e da Dose Convulsiva (DC ₅₀)	25
6.2. Determinação dos Períodos de Latência para Perda de Reflexo de Orientação (PRO), Convulsão e Duração da Convulsão.....	26
6.3. Análise Estatística	27
6.3.1. Ensaio Tipo Dose - Resposta (DL ₅₀ e DC ₅₀).....	27
6.3.2. Análise de Dados Censurados (Latência da PRO e Latência e Duração da Convulsão.....	27
7. RESULTADOS	
7.1. Resultados da Análise Estatística dos Dados Obtidos no Experi- mento de Dose Letal.....	28
7.2. Resultados da Análise Estatística dos Dados Obtidos no Experi- mento de Dose Convulsiva.....	32
7.3. Resultado do Estudo da Perda de Reflexo de Orientação, Latência da Convulsão e Duração da Convulsão	35
8. DISCUSSÃO.....	40
9. CONCLUSÃO.....	47
10. ANEXOS	48
11. SUMMARY	55
12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57

1. Listas

	página
1.1. Lista das tabelas, gráficos e quadros presentes no texto.	
- Tabela 1. Ajuste do modelo logístico de DL_{50} para os grupos que continham lidocaína como anestésico local.	29
- Tabela 2. Estimativas das Doses Letais 50% (DL_{50}), expressas em mg/kg de peso corporal, via subcutânea, erro padrão (e.p.), equações das retas e intervalo de confiança (95%) dos grupos experimentais que apresentam a lidocaína como agente anestésico.	29
- Gráfico 1. Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método DELTA para DL_{50} dos grupos contendo lidocaína como agente anestésico.	29
- Gráfico 2. Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método FIELLER para DL_{50} dos grupos contendo lidocaína como agente anestésico.	29
- Quadro 1. Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método DELTA para DL_{50} dos grupos contendo lidocaína.	30
- Quadro 2. Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método FIELLER para DL_{50} dos grupos contendo lidocaína.	30
- Tabela 3. Ajuste do modelo logístico para a DL_{50} dos grupos que continham prilocaína como anestésico local.	30
- Tabela 4. Estimativas das Doses Letais 50% (DL_{50}), expressas em mg/kg de peso corporal, via subcutânea, erro padrão (ep), equações das retas e intervalo de confiança (95%) dos grupos experimentais que apresentavam a prilocaína como agente anestésico.	30
- Gráfico 3. Intervalo de Confiança (95%) obtidos pelo método DELTA para DL_{50} dos grupos contendo prilocaína como agente anestésico.	31
- Gráfico 4. Intervalo de Confiança (95%) obtidos pelo método FIELLER para DL_{50} dos grupos contendo prilocaína como agente anestésico.	31
- Quadro 3. Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método DELTA para DL_{50} dos grupos contendo prilocaína.	31
- Quadro 4. Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método FIELLER para DL_{50} dos grupos contendo prilocaína.	31

	página
- Tabela 5. Ajuste do modelo logístico de DL_{50} para a solução de noradrenalina.	31
- Tabela 6. Estimativa da Dose Letal 50% (DL_{50}), expressa em mg/kg de peso corporal, via subcutânea, erro padrão (ep), equação da reta e intervalo de confiança (95%) da solução de noradrenalina a 2 mg/kg (grupo I9).	32
- Tabela 7. Ajuste do modelo logístico, de DC_{50} para os grupos que continham lidocaina como anestésico local.	32
- Tabela 8. Estimativas das Doses Convulsivas 50% (DC_{50}), expressas em mg/kg de peso corporal, via subcutânea, erro padrão (ep), equações das retas e intervalo de confiança (95%) dos grupos experimentais que apresentam a lidocaina como agente anestésico.	33
- Gráfico 5. Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método DELTA para DC_{50} dos grupos contendo lidocaina como agente anestésico.	33
- Gráfico 6. Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método FIELLER para DC_{50} dos grupos contendo lidocaina como agente anestésico.	33
- Quadro 5. Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método DELTA para DC_{50} dos grupos contendo lidocaina.	33
- Quadro 6. Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método FIELLER para DC_{50} dos grupos contendo lidocaina.	33
- Tabela 9. Ajuste do modelo logístico de DC_{50} dos grupos que continham prilocaína como anestésico local.	34
- Tabela 10. Estimativas das Doses Convulsivas 50% (DC_{50}), expressas em mg/kg de peso corporal, via subcutânea, erro padrão (ep), equações das retas e intervalo de confiança (95%) dos grupos experimentais que apresentavam a prilocaína como agente anestésico.	34
- Gráfico 7. Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método DELTA para DC_{50} dos grupos contendo prilocaína como agente anestésico.	34
- Gráfico 8. Intervalos de Confiança (95%) obtidos pelo método FIELLER para DC_{50} dos grupos contendo prilocaína como agente anestésico.	34
- Quadro 7. Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método DELTA para DC_{50} dos grupos contendo prilocaína.	35

	página
- Quadro 8. Resultados das comparações dos Intervalos de Confiança obtidos pelo método FIELLER para DC_{50} dos grupos contendo prilocaína.	35
- Gráfico 9. Curvas da probabilidade de um animal estar no estado latente para a PRO em função do tempo (em minutos) para os grupos contendo lidocaína como sal anestésico.	36
- Gráfico 10. Curvas da probabilidade de um animal estar no estado latente para a convulsão em função do tempo (em minutos) para os grupos contendo lidocaína como sal anestésico.	36
- Gráfico 11. Curvas da probabilidade de um animal estar no estado convulsivo em função do tempo (em minutos) para os grupos contendo lidocaína como sal anestésico.	37
- Gráfico 12. Curvas da probabilidade de um animal estar no estado latente para a PRO em função do tempo (em minutos) para os grupos contendo prilocaína como sal anestésico.	38
- Gráfico 13. Curvas da probabilidade de um animal estar no estado latente para a convulsão em função do tempo (em minutos) para os grupos contendo prilocaína como sal anestésico.	38
- Gráfico 14. Curvas da probabilidade de um animal estar no estado convulsivo em função do tempo (em minutos) para os grupos contendo prilocaína como sal anestésico.	39
- Tabela 11. Estimativas de DL_{50} da lidocaína , lidocaína com noradrenalina e lidocaína com felipressina (em mg/kg), via subcutânea em camundongos publicadas por vários autores.	42
- Tabela 12. Estimativas de DL_{50} da prilocaína, prilocaína com noradrenalina e prilocaína com felipressina (em mg/kg), via subcutânea em camundongos publicadas por vários autores.	45
- Tabelas do número de animais mortos em função das doses utilizadas para cada um dos grupos contendo lidocaína no estudo da Dose Letal 50% (via subcutânea).	48
- Tabelas do número de animais mortos em função das doses utilizadas para cada um dos grupos contendo prilocaína no estudo da Dose Letal 50% (via subcutânea).	49
- Tabela do número de animais mortos em função das doses utilizadas para o estudo da Dose Letal 50% do vasoconstritor noradrenalina (via subcutânea).	50

	página
- Tabelas do número de animais que entraram em convulsão em função das doses utilizadas para cada um dos grupos contendo lidocaína no estudo da Dose Convulsiva 50% (via subcutânea).	51
- Tabelas do número de animais que entraram em convulsão em função das doses utilizadas para cada um dos grupos contendo prilocaína no estudo da Dose Convulsiva 50% (via subcutânea).	52
- Tabelas de Latência da PRO, Latência da Convulsão e Duração da Convulsão (em minutos) para os grupos contendo lidocaína.	53
- Tabelas de Latência da PRO, Latência da Convulsão e Duração da Convulsão (em minutos) para os grupos contendo prilocaína.	54

1.2. Lista das abreviaturas e siglas utilizadas no texto.

apud	citado por
conc.	concentração
DC ₅₀	dose convulsiva em 50% da população
DL ₅₀	dose letal em 50% da população
Dev.	“deviance”
e. p.	erro padrão
et al	et alii = e outros
ex.	exemplo
fel	felipressina
g	grama
g/kg	grama por quilograma
G. L.	graus de liberdade
lido	lidocaína
ln (d)	logarítmo neperiano da dose
±	mais ou menos
µg	micrograma
µg/kg	micrograma por quilograma
µg/ml	micrograma por mililitro
ml	mililitro
NOR	noradrenalina
nº	número
op. cit.	opus citatum = obra citada
pH	logarítmo negativo da concentração de íons hidrogênio
pka	constante de dissociação da droga
PLV2	fenilalanina lisina vasopressina
pr > x ²	probabilidade maior que qui - quadrado
prilo	prilocaina
PRO	perda de reflexo de orientação
%	por cento
Ref.	referência
Reg.	regressão
Res.	resíduo
s. p. f.	“specific pathogen free”, = livre de patógenos específicos
UI/ml	unidades internacionais por mililitro
x ²	qui - quadrado

2. RESUMO

Neste trabalho nos propusemos a avaliar a toxicidade aguda da lidocaína a 2% - (lido) e prilocaína a 3% - (prilo) quando administradas em associação com uma combinação de noradrenalina (nor) e felipressina (fel).

Avaliamos a toxicidade aguda através da determinação da DL₅₀ (dose letal em 50% da população), DC₅₀ (dose convulsiva em 50% da população), latência da perda de reflexo de orientação (PRO) e latência e duração da convulsão.

Para tanto, utilizamos 1840 camundongos (espécie *Mus-musculus*) machos (17 a 22 g), linhagem Swiss s.p.f., sendo 10 animais por dose e, no mínimo, 05 doses por grupo. Os animais foram divididos aleatoriamente nos grupos : G₁ - PF₁ N₅₀ (prilo + fel 0,01 UI/ml + nor 1:50.000), G₂ - PF₁ N₁₀₀ (prilo + fel 0,01 UI/ml + nor 1:100.000), G₃ - PF₁ N₁₅₀ (prilo + fel 0,01 UI/ml + nor 1:150.000), G₄ - LF₁N₅₀ (lido + fel 0,01 UI/ml + nor 1:50.000), G₅ - LF₁ N₁₀₀ (lido + fel 0,01 UI/ml + nor 1:100.000) , G₆ - LF₁ N₁₅₀ (lido + fel 0,01 UI/ml + nor 1:150.000), G₇ - P N₅₀ (prilo + nor 1:50.000), G₈ - L N₅₀ (lido + nor 1:50.000), G₉ - PF₃ (prilo + fel 0,03 UI/ml), G₁₀ - LF₃ (lido + fel 0,03 UI/ml), G₁₁ - L (lido), G₁₂ - P (prilo).

Administramos ainda soluções contendo apenas os vasoconstritores, associados : G₁₄ - F₁ N₅₀ (fel 0,01 UI/ml + nor 1:50.000), G₁₅ - F₁ N₁₀₀ (fel 0,01 UI/ml + nor 1:100.000), G₁₆ - F₁ N₁₅₀ (fel 0,01 UI/ml + nor 1:150.000), e isolados G₁₇ - F₃ (fel 0,03 UI/ml) e G₁₈ - N₅₀ (nor 1:50.000). Observamos os animais por 48 horas (DL₅₀) e 1 hora ou até voltarem à normalidade (DC₅₀).

As determinações da DL₅₀ e DC₅₀ foram feitas pelo pacote estatístico GLIM (método logístico), e os resultados, comparados, através dos intervalos de confiança obtidos pelo método Fieller. A análise estatística da latência da PRO e latência e duração da convulsão foram feitas através do estimador produto limite Kaplan Meier, sendo os grupos comparados pelo método de Log - Rank.

A análise dos resultados para a DL₅₀ mostrou-nos que tanto para a lidocaína quanto para a prilocaína as soluções que continham noradrenalina foram as mais tóxicas (LF₁ N₁₀₀, L N₅₀, LF₁N₅₀, PF₁ N₅₀, PF₁ N₁₀₀, PN₅₀).Em valores absolutos, a felipressina, quando associada à lidocaína (LF₃), foi capaz de aumentar a DL₅₀.

Em relação a DC₅₀ observamos que, para os grupos contendo lidocaína, as soluções contendo maior concentração de noradrenalina promoveram maior proteção ao animal. Para os grupos contendo prilocaína , somente a solução que continha prilocaína associada à felipressina (PF₃) foi capaz de diminuir a toxicidade.

Observamos ainda, um aumento da latência da PRO pela felipressina tanto quando associada à lidocaína (LF₃) como quando à prilocaína (PF₃). Não observamos diferença na latência da convulsão entre os grupos contendo lidocaína e prilocaína. Quanto ao parâmetro duração da convulsão observamos que houve diferença significativa somente para os grupos PF₁ N₁₅₀ e P. Esses grupos apresentaram maior duração da convulsão.

Com base nos resultados obtidos, concluímos que, em termos de toxicidade, dentro do modelo experimental estudado, não há vantagens na associação de dois vasoconstritores como a noradrenalina e felipressina.

* Palavras chave: Anestesia local, Vasoconstritor e Drogas - toxicidade.

3. INTRODUÇÃO

No final do século XIX e durante o século XX, houve um grande desenvolvimento de técnicas cirúrgicas devido à utilização de processos que permitiam a eliminação total ou parcial da dor. Esses processos, conhecidos como anestesia, podem ser divididos em geral e local (ZANINI/OGA, 1989).

A anestesia local, também conhecida como anestesia regional ou bloqueio de condução, é a perda da sensibilidade de um território do organismo, obtida pela aplicação de uma substância capaz de bloquear localmente a condução dos influxos nervosos provenientes de uma determinada área corporal, sem perda da consciência (JONG, 1974).

Este tipo de anestesia pode ser obtida por fatores mecânicos (compressão, isquemia), por processos físicos (resfriamento do local) e por agentes químicos (substâncias capazes de bloquear a condução nervosa) (REEVE, 1970).

A verdadeira era da anestesia local controlável por meios químicos começou com a observação de KÖLLER, em Viena, relatada no CONGRESSO DE OFTALMOLOGIA DE HEIDELBERG, em 1884, de que a cocaína, instilada na córnea, produzia anestesia local (GOODMAN & GILMAN, 1991).

Isolada por NIEMAN em 1860, a cocaína já era usada há séculos por habitantes da região andina (Bolívia e Peru) que mascavam a folha de coca (*Erythroxyton coca*) pela sensação de bem-estar e diminuição da fadiga produzidas pela planta (ROBERTS & SOWRAY, 1995).

Conhecida a observação de KÖLLER, logo a anestesia local pela cocaína difundiu-se a todos os centros médicos, tendo recebido a contribuição para o seu desenvolvimento de diversos pioneiros. Um deles, BRAUN, em 1901, sugeriu a associação de adrenalina ao anestésico local para diminuir sua absorção e prolongar o tempo de ação, como um "torniquete farmacológico" (CLARK, 1981).

As substâncias mais comumente associadas a anestésicos locais são as drogas adrenérgicas ou aminas simpatomiméticas, por serem bastante semelhantes aos mediadores endógenos do Sistema Nervoso Autônomo Simpático. Dentre elas destacam-se a adrenalina (epinefrina) e a noradrenalina (norepinefrina) (NEWCOMB, 1973; JASTAK & YAGIELA, 1983).

Além dessas, a felipressina (PLV₂), um derivado sintético da vasopressina (hormônio antidiurético), também tem sido utilizada como um vasoconstritor em soluções anestésicas locais (ROBERTS & SOWRAY, 1987; MALAMED, 1990).

Como evidenciado por vários trabalhos, a eficácia desta associação vasoconstritor - anestésico local depende do tipo de anestésico local, sua concentração e local de administração. Assim a mepivacaína,

e particularmente a prilocaína, anestésicos do grupo amida, não apresentam atividade vasodilatadora pronunciada, ao contrário, podem causar ligeira vasoconstrição em alguns leitos vasculares não sendo tão dependentes da associação ao vasoconstritor (JASTAK & YAGIELA, 1981). A lidocaína, também pertencente ao grupo amida, entretanto, devido a sua ação vasodilatadora pronunciada, quando injetada isoladamente em tecidos muito vascularizados, como a cavidade bucal, promove uma anestesia de duração muito curta (anestesia pulpar em torno de 5 a 10 minutos) e portanto, insuficiente (MALAMED, 1990).

Por outro lado, a toxicidade das substâncias vasoconstritoras (BOAKES et al, 1972; ALLEN et al, 1973; LILIENTHAL & REYNOLDS, 1975; LILIENTHAL, 1976) levou alguns autores a estudarem associações contendo um anestésico local e dois vasoconstritores de grupos diferentes como a adrenalina e a felipressina. Usando esses últimos em concentrações menores que as normalmente utilizadas, visavam obter a mesma eficiência vasoconstritora, limitando a ocorrência de possíveis ações indesejáveis.

A observação da existência de uma potenciação da ação das catecolaminas pela vasopressina (STAVRAKY & OLIVER, 1952; BARTELSTONE & NASMYTH, 1965) levou ao aparecimento de uma série de estudos em estrutura isolada, demonstrando que os vasoconstritores derivados da vasopressina (ornipressina e felipressina, esta última atualmente em uso em Odontologia) também podem promover um aumento de resposta vasoconstritora das aminas simpatomiméticas - adrenalina e noradrenalina (WATERSON & HUME, 1973; WATERSON, 1974 e 1975; FROST et al, 1976; GERKE et al, 1977a; GERKE et al 1978).

Diante disso, o objetivo deste trabalho é verificar se a combinação de dois vasoconstritores, como a noradrenalina e a felipressina, associada à lidocaína ou prilocaína é capaz de aumentar a Dose Letal (DL_{50}) e a Dose Convulsiva (DC_{50}) destes anestésicos locais diminuindo, assim, sua toxicidade.

4 . REVISÃO DE LITERATURA

4.1 REVISÃO SOBRE ANESTÉSICOS LOCAIS

A supressão da sensibilidade local se realiza, hoje em dia, quase que essencialmente por agentes químicos, isto é, pelo uso de substâncias capazes de bloquear a condução nervosa, os anestésicos locais.

A cocaína, alcalóide natural, foi a primeira substância pura empregada como anestésico local. NIEMANN (1860), quando isolou este alcalóide das folhas de *Erythroxyton coca*, notou que seus cristais produziam um efeito peculiar, quando colocados sobre a língua, tornando-a dormente e quase insensível.

Em 1884, KÖLLER & HALL introduziram a cocaína como anestésico local na oftalmologia e na odontologia, respectivamente.

Apesar dos benefícios trazidos pela utilização desta substância, o uso indiscriminado, aliado a sua alta toxicidade e capacidade de produzir farmacodependência, fizeram com que fossem iniciadas pesquisas de outras substâncias menos tóxicas e sem efeitos indesejáveis, porém, com a mesma propriedade anestésica local. Vale dizer que, hoje em dia, a cocaína é de uso muito restrito.

EINHORN et al, em 1905, sintetizaram o primeiro composto de ação anestésica local: a procaína, que se tornou o anestésico local padrão na primeira metade do século.

A descoberta da lidocaína, em 1943, por LÖEFGREN, trouxe novas perspectivas para a anestesia local e a partir da década de 50 ela tomou o lugar da procaína como padrão, e novos compostos desse grupo foram sintetizados como: a prilocaína, a mepivacaína e a etidocaína, entre outros (ZANINI & OGA, 1989).

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

Em comparação à procaína, a lidocaína tem potência e toxicidade maiores, porém, sua alergenicidade é praticamente nula. Além disso, possui alta capacidade de difusão nos tecidos (2 a 3 minutos) devido ao seu pKa (7,9) e meia-vida de 90 minutos (MALAMED, 1993). A duração da anestesia pulpar (5 a 10 minutos), quando não associada a vasoconstritores, é insuficiente para a realização dos procedimentos odontológicos em sua maioria. Isto se dá em razão do bloqueio promovido pela lidocaína sobre a inervação simpática que acompanha os vasos, no local onde o anestésico é injetado. Esse bloqueio causa uma diminuição do tônus da musculatura lisa e conseqüente vasodilatação.

A lidocaína é disponível para uso em odontologia na concentração de 2 % associada a um vasoconstritor. Essa associação causa redução do fluxo sanguíneo para a área de injeção, gerando menor nível sanguíneo de lidocaína e menor sangramento no local da injeção. Também há aumento da duração de ação: aproximadamente 60 minutos de anestesia pulpar (MALAMED, 1993).

O metabolismo da lidocaína se dá no fígado, pelas oxidasas de função mista microssômicas em monoetilglicina - xilidida e glicina - xilidida, que podem ser biotransformadas em monoetilglicina e xilidida (GOODMAN & GILMAN, 1991). A sua excreção ocorre a nível renal, sendo 2,8 % de uma dose de forma inalterada e mais de 80 % na forma de vários metabólitos, sendo o principal metabólico, no homem, o 4- hidróxi - 2,6- dimetilnilina (KEENAGHAM & BOYES, 1992).

Em 1960, LÖEFGREN & TEGNER sintetizaram a prilocaína, outro anestésico local do tipo amida. Esse anestésico possui a mesma potência anestésica da lidocaína (ASTRÖM & PERSON, 1961; CRAWFORD, 1964) porém, é 40% menos tóxico que esta (AKERMAN et al, 1966; MALAMED, 1993).

A prilocaína tem seu início de ação de 2 a 4 minutos após a injeção, sendo, portanto, um pouco mais lento que o da lidocaína (MALAMED, 1993).

A prilocaína possui menor ação vasodilatadora que a lidocaína. A prilocaína é freqüentemente capaz de produzir anestesia com duração igual à lidocaína com vasoconstritor. Portanto ela pode ser usada na concentração de 4% sem vasoconstritor para anestesia de bloqueio (cerca de 60 minutos de anestesia pulpar). Já o uso dessa solução, para a técnica infiltrativa, resulta em duração insuficiente de anestesia pulpar (MALAMED, 1993).

O metabolismo da prilocaína se dá no fígado, pulmões e rins (AKERMAN et al, 1966) dando origem a L-N, N-propilamina e a o-toluidina, considerados seus principais metabólitos. A o-toluidina pode levar à metemoglobinemia, nas situações em que a prilocaína é injetada em doses acima de 6 mg/Kg ou 400 mg. Portanto, tem contra-indicação relativa a pacientes com metemoglobinemia idiopática ou congênita, anemia, insuficiência cardíaca ou respiratória evidenciada por hipoxia (MALAMED, 1993).

A excreção da prilocaína e de seus metabólitos se dá por via renal. Como a prilocaína é rapidamente biotransformada pode ser considerada por alguns como o mais seguro de todos os anestésicos locais do tipo amida - menos tóxico (MALAMED, 1993).

4.2 REVISÃO SOBRE VASOCONSTRITORES

Os anestésicos locais são frequentemente associados aos vasoconstritores. Essa associação foi proposta pela primeira vez em 1901, por BRAUN, com a finalidade básica de equilibrar as ações vasodilatadoras das soluções anestésicas para melhorar a qualidade e duração da anestesia (MALAMED, 1993).

Os vasoconstritores são drogas que contraem os vasos sanguíneos, portanto, controlam a perfusão tecidual. Os vasoconstritores, quando associados a um anestésico local apresentam as seguintes vantagens :

1. aumentam a duração da anestesia (KEESLING & HINDS, 1963; GANGAROSA & HALIK, 1967) , pois maiores concentrações do anestésico local permanecem no nervo e ao seu redor durante maiores períodos.

2. diminuem o sangramento no local injetado (MEYER & ALLEN, 1968 ; SVEEN , 1979).

3. diminuem a toxicidade da solução anestésica, pois, a absorção do anestésico local pela corrente sanguínea torna-se mais lenta, produzindo, assim, menores níveis sanguíneos (BRAID & SCOTT, 1965).

Embora apresente muitas vantagens, os vasoconstritores apresentam também desvantagens. Uma nitida desvantagem é a possibilidade de toxicidade sistêmica devido à administração de altas doses dessas drogas, o que ocorreu nos primórdios de seu uso. Vários estudos propõem o uso de soluções vasoconstritoras ainda menos concentradas que as em uso atualmente.(KEESLING & HINDS, 1963; GANGAROSA & HALIK, 1967; CARDWELL & CAWSON, 1969; SIEGEL & VISTNES, 1972; KNÖLL - KÖHLER & FÖRTSCH,1992).

Os vasoconstritores mais usados em conjunto com os anestésicos locais são quimicamente idênticos ou muito semelhantes aos mediadores do sistema nervoso simpático . Assim, as ações dos vasoconstritores assemelham-se à resposta dos nervos adrenérgicos à estimulação, sendo frequentemente classificados como drogas simpatomiméticas, ou adrenérgicas. São eles a adrenalina, noradrenalina, fenilefrina, levonordefrina (MALAMED, 1993).

Os simpatomiméticos possuem graus variáveis de atividade nos receptores alfa (α_1 e α_2) e beta (β_1 e β_2) distribuídos por todo o organismo, porém a vasoconstrição especificamente resulta da sua interação com os receptores α_1 presentes nas arteríolas.

Os vasoconstritores têm diferente potência vasoconstritora (estimulação de receptores α_1), e este fato faz com que sejam utilizados em diferentes concentrações nas soluções anestésicas (CASSIDY et al, 1986).

A droga mais potente desse gênero é a adrenalina, sendo geralmente comercializada em concentrações de 1:100.000 a 1:200.000 na forma de tubetes para uso odontológico. Já a noradrenalina (norepinefrina) possui um quarto de potência vasopressora da adrenalina e seu uso odontológico como vasoconstritor, associado a anestésicos locais, deve ser em maiores concentrações. Ela é disponível para uso clínico na concentração de 1:30.000 nos E. U. A. (MALAMED, 1993) e, no Brasil, nas concentrações de 1:50.000 e 1:80.000.

As ações da noradrenalina ocorrem quase que exclusivamente nos receptores alfa - 90%. Ela também estimula as ações beta no coração - 10% (MALAMED, 1993) e produz constrição dos vasos sanguíneos cutâneos através da estimulação alfa. Isto leva a um aumento da resistência periférica total e aumento das pressões sistólica e diastólica. Níveis excessivos de noradrenalina no sangue produzem elevação acentuada das referidas pressões, com aumento do risco de "acidente vascular cerebral" hemorrágico, cefaléia, episódios de angina em pacientes suscetíveis e arritmias cardíacas.

A injeção extravascular de noradrenalina nos tecidos pode produzir necrose e descamação devido à intensa estimulação alfa. Na cavidade oral, o local provável deste fenômeno é o palato.

As manifestações clínicas da superdosagem de noradrenalina são semelhantes (mas menos freqüentes e intensas) às da adrenalina. Normalmente envolvem estimulação do SNC.

A ação global da noradrenalina no coração e sistema cardiovascular envolve aumento da pressão sistólica, aumento da pressão diastólica, redução da freqüência cardíaca, débito cardíaco ligeiramente reduzido, aumento do volume sistólico e aumento da resistência periférica total.

Vários pesquisadores têm procurado correlacionar a presença ou não de vasoconstritores com o aparecimento de alterações na condição cardiovascular do paciente durante o tratamento odontológico.

Alguns trabalhos têm demonstrado não haver alteração estatisticamente significativa nos parâmetros cardiovasculares de indivíduos normais (LILIENTHAL & REYNOLDS, 1975, PIPERNO & KAIN, 1981) ou de pacientes com alterações cardiovasculares (CHERASKIN & PRASERTSUNTARASAI, 1958; HUOBER, 1969, HIROTA et al, 1986) que receberam soluções anestésicas contendo vasoconstritor do tipo amina simpatomimética. Outros trabalhos mostram que a alteração ocorre, e pode ser maior, dependendo do grau de comprometimento da saúde do indivíduo (ABRAHAM-INPIJN et al, 1988) ou do tipo e concentração do vasoconstritor utilizado. Neste último aspecto, segundo MEYER (1986), os hipertensos são

mais sensíveis à noradrenalina, sendo as concentrações 1:20.000 e 1:30.000 contra-indicadas nesses pacientes.

A partir da década de 60, um novo grupo de substâncias derivadas da vasopressina começou a ser pesquisado e utilizado em associação com alguns anestésicos locais . A felipressina e a ornipressina, ambas compostos sintéticos, são os destaques desse grupo .

A felipressina (ou PLV 2) é um análogo sintético do hormônio antidiurético vasopressina . É uma amina não simpatomimética classificada como vasoconstritor. Seu nome comercial é Octapressin® . Ela difere da vasopressina pois apresenta substituição nas posições 2 e 8 da cadeia pelos amino-ácidos fenilalanina e lisina, respectivamente. Essas substituições levam a uma diminuição marcada nas atividades antidiurética e ocitócica com seletividade maior pelo efeito vasoconstritor (BERDE et al , 1961; GUHL, 1961).

A felipressina atua como um estimulante direto do músculo liso vascular. Sua ação parece ser mais acentuada na microcirculação venosa que na arteriolar (LIGHT et al, 1965, ALTURA et al, 1965; WATERSON, 1970; OLGART & GAZELIUS, 1977).

Devido ao seu efeito predominante sobre a circulação venosa, a felipressina apresenta menor efeito hemostático em relação à adrenalina (KLINGENSTRÖM et al, 1967; NEWCOMB & WAITE, 1972) porém, é eficiente no prolongamento da duração da ação anestésica e não produz hipoxia tecidual, o que pode dar-se com o uso da noradrenalina e adrenalina (KLINGENSTRÖM & WESTERMARK, 1963; PERSSON, 1971; ROBERTS & SOWRAY, 1995). E ainda, a felipressina pode ser usada sem problemas em pacientes anestesiados com compostos halogenados ou ciclopropano (KATZ, 1965; LIGH et al, 1965).

A felipressina e a ornipressina apresentam latência maior em comparação com a adrenalina (KLINGENSTRÖN et al, 1967; LINDORF, 1979) .

Em altas doses (maiores que as terapêuticas), a constrição dos vasos sanguíneos cutâneos induzida pela felipressina pode produzir palidez facial (KATZ, 1965; LIGHT et al, 1965; COLLINS, 1972) .

Outros efeitos colaterais da felipressina, quando em altas doses, relatados por alguns autores são o aumento da pressão arterial sistêmica, diminuição do volume de ejeção, da frequência e do trabalho cardíacos, dos fluxos sanguíneos coronário, carotídeo e femoral, do fluxo plasmático renal, e da excreção de água e eletrólitos (RIBOT et al, 1963; LONGO et al, 1964; MAXWELL, 1965).

Estudos laboratoriais e clínicos com a felipressina em animais e homem demonstraram uma ampla margem de segurança: nas doses comumente usadas na prática odontológica não produz alterações significantes na pressão arterial, na frequência e no ritmo cardíaco (AELLIG et al, 1970; LILIENTHAL, 1976).

O uso da felipressina tem sido contra-indicado em gestantes devido às suas ações ocitócicas, embora não haja na literatura evidências de que o uso desse vasoconstritor, nas doses utilizadas em odontologia, exerça essas ações. A sua associação com a prilocaína seria fator agravante, pois este anestésico local atravessa a barreira placentária e, em altas doses, pode provocar metemoglobinemia fetal (ROBERTS & SOWRAY, 1995). Num estudo feito em duas pacientes gestantes (6º mês de gravidez), não foram observados sinais de estimulação uterina com o uso da felipressina em cirurgias vaginais (GREEN & BLUMBERG, 1965).

A ação vasoconstritora, tanto para as aminas simpatomiméticas quanto para a felipressina, é influenciada pelo tipo e concentração do anestésico local e também pelo local da injeção (ÅSTRON & PERSON, 1965; ÅKERMAN, 1966).

A diferença na potência vasodilatadora dos anestésicos locais faz com que, nas soluções comerciais, a lidocaína seja associada às aminas simpatomiméticas (adrenalina, noradrenalina, e fenilefrina) e a prilocaína (ação vasodilatadora menor) seja associada tanto à adrenalina (1:200.000) quanto à felipressina (0,03 UI/ml).

DEASY & DISTEFANO (1972) verificaram que a lidocaína e a procaína potenciavam as ações da noradrenalina e antagonizavam as da adrenalina em firas de aorta de coelho, enquanto que a cocaína potenciava as ações da adrenalina e da noradrenalina .

GERKE et al (1976 a) observaram que a cocaína, a lidocaína e a prilocaína potenciavam a ação da adrenalina, desde que administradas em baixas concentrações (até 400 ug/ml) à porção extraluminal da artéria isolada da orelha de coelho. Já, quando administradas em concentrações acima de 1000 ug/ml, a lidocaína e a prilocaína promoviam depressão significativa da resposta vascular. Com a desnervação da artéria, bem como com a aplicação intraluminal, também não foi observada potenciação. Com base nessas observações e nas observações de IVERSEN (1967) de que a recaptção neuronal tem maior afinidade pela noradrenalina do que pela adrenalina, os autores sugeriram que a lidocaína e a prilocaína potenciavam a resposta vascular através do bloqueio de recaptção. Tendo esta maior afinidade pela noradrenalina, a potenciação era observada em relação à adrenalina. Em estudos posteriores essa hipótese foi comprovada com a utilização de técnica histoquímica (GERKE et al, 1976b) e isótopos- adrenalina e noradrenalina marcadas com trítio (GERKE & FREWIN, 1982) .

GERKE et al (1977b) também observaram que soluções comerciais de lidocaína e prilocaína, em baixas doses (até 0,4 ml), potenciavam a resposta vascular à adrenalina em artéria isolada de orelha de coelho. Em doses acima de 0,4 ml, a resposta vascular à adrenalina era deprimida por todas as soluções (prilocaína e lidocaína, comerciais ou preparadas em laboratório). Verificaram ainda que, em baixas doses (até 0,4 ml), a lidocaína não alterava a resposta vascular à noradrenalina e em doses acima de 0,8 ml, ocorria depressão dessa mesma resposta.

Outro aspecto que tem sido bastante estudado é a toxicidade das associações de anestésicos locais e vasoconstritores .

HÖLLER (1952), estudando a toxicidade de anestésicos associados a um vasoconstritor, em camundongos, por via subcutânea, obteve os seguintes resultados para a DL_{50} : lidocaína com adrenalina 1:80.000 - 170 mg/Kg, lidocaína com noradrenalina 1:10.000 - 200 mg/Kg, lidocaína sem vasoconstritores 240 mg/Kg, concluindo que a adição tanto de um quanto de outro vasoconstritor causaram aumento da toxicidade da solução anestésica .

KOELZER & WEHR (1959), pesquisando a mesma coisa, porém usando a via intraperitoneal em camundongos, obtiveram resultados semelhantes: lidocaína a 5% sem vasoconstritor - 248 mg/Kg, lidocaína com adrenalina 1: 50.000- 213 mg/Kg.

Já HENN (1960) obteve resultados diferentes estudando a DL_{50} da lidocaína a 2,5% e 3,5 % injetada em camundongos, por via subcutânea(mg/Kg): lidocaína sem vasoconstritor - 314 ± 21 e 278 ± 7 , lidocaína com adrenalina - 317 ± 52 e 310 ± 14 , chegando à conclusão de que a toxicidade das soluções anestésicas, quando associadas à adrenalina, apresentou-se ligeiramente diminuída.

ASTROM et al (1964), trabalhando com vários anestésicos: tetracaína a 0,5 %, prilocaína a 4% e lidocaína a 2% , injetados em camundongos, por via subcutânea , associados à adrenalina em concentrações crescentes relataram diferenças de toxicidade (DL_{50} g/Kg). Para a tetracaína a adição de adrenalina (nas diferentes concentrações testadas) levou a uma diminuição da toxicidade. Já para a prilocaína observaram os seguintes resultados: prilocaína sem vasoconstritor - $0,60 \pm 0,05$ g/Kg, prilocaína com adrenalina 1: 400.000- $0,45 \pm 0,02$ g/kg e prilocaína com adrenalina 1:200.000 - $0,43 \pm 0,02$ g/kg, prilocaína com adrenalina 1:100.000- $0,41 \pm 0,03$ g/kg e prilocaína com adrenalina 1:50.000 - $0,38 \pm 0,02$ g/kg, concluindo que houve um aumento de toxicidade, no entanto essa diferença foi estatisticamente significativa somente nas concentrações mais altas do vasoconstritor . Para a lidocaína foram observados os seguintes valores : lidocaína sem vasoconstritores - $0,34 \pm 0,02$ g/kg, lidocaína com adrenalina 1:400.000 - $0,20 \pm 0,01$ g/kg, lidocaína com adrenalina 1:200.000 - $0,20 \pm 0,01$ g/kg e lidocaína com adrenalina 1:100.000 - $0,23 \pm 0,01$ g/kg. O aumento progressivo da concentração de adrenalina associada à lidocaína e à prilocaína não causou aumento crescente da toxicidade destes anestésicos locais. A DL_{50} da adrenalina, neste experimento, estava entre 4,6 e 5,8 mg/Kg.

No mesmo estudo anterior, porém feito com administração intravenosa das soluções anestésicas, foram obtidos os seguintes valores para a DL_{50} (lidocaína 0,25%) : sem vasoconstritor - $25,0 \pm 16$ mg/kg, com adrenalina 1:400.000 - $20,8 \pm 16$ mg/kg e para DL_{50} (prilocaína 0,25%): sem vasoconstritor $45,0 \pm 2,5$ mg/kg , com adrenalina 1:400.000 $37,5 \pm 2,5$ mg/kg. Os resultados demonstraram um aumento da toxicidade anestésica com a adição de adrenalina.

AKERMAN (1966) pesquisou a toxicidade de soluções de prilocaína e lidocaína em diferentes concentrações associadas à adrenalina ou à felipressina quando injetadas por via subcutânea ou intravenosa.

Por via subcutânea obteve os seguintes resultados da DL₅₀ de lidocaína : lidocaína sem vasoconstritor - 238 ± 11 mg/kg, com felipressina a 0,1 UI/ml - 311 ± 15 mg/kg, com felipressina a 0,5 UI/ml - 288 ± 15 mg/kg, com adrenalina 1:200.000 - $212 \pm 11,0$ mg/kg e com adrenalina 1:100.000 - 196 ± 7 mg/kg e da DL₅₀ de prilocaína : sem vasoconstritor - 637 ± 18 mg/kg, com felipressina 0,1 UI/ml - 770 ± 19 mg/kg, com felipressina 0,5 UI/ml - 719 ± 12 mg/kg, com adrenalina 1:200.000 - 446 ± 16 mg/kg e com adrenalina 1:100.000 - 386 ± 14 mg/kg. Por esta via, o pesquisador observou que a adrenalina aumentava a toxicidade aguda de ambos os anestésicos, já a felipressina promovia efeito contrário.

Por via intravenosa obteve os seguintes resultados da DL₅₀ de lidocaína : lidocaína sem vasoconstritor - $17,8 \pm 0,9$ mg/kg, com felipressina 0,1 UI/ml - $26,7 \pm 1,0$ mg/kg, com felipressina 0,5 UI/ml - $15,8 \pm 1,2$ mg/kg, com adrenalina 1:200.000 - $13,6 \pm 1,0$ mg/kg, com adrenalina 1:100.000 - $10,4 \pm 1,0$ mg/kg. Em relação a DL₅₀ prilocaína : prilocaína sem vasoconstritor - $35,0 \pm 1,7$ mg/kg, com felipressina 0,1 UI/ml - $34,3 \pm 2,5$ mg/kg, com felipressina 0,5 UI/ml - $34,6 \pm 0,6$ mg/kg, com adrenalina 1:200.000 - $23,6 \pm 1,7$ mg/kg e com adrenalina 1:100.000 - $18,9 \pm 0,8$ mg/kg. Por esta via, o pesquisador observou que a toxicidade não foi aumentada pela felipressina, enquanto as soluções contendo adrenalina mostraram-se mais tóxicas.

AKERMAN (1969), através dos sinais de intoxicação sistêmica perda de reflexo de orientação (PRO) e convulsão, produzidos após injeção subcutânea de lidocaína e prilocaína associadas à adrenalina e felipressina, em camundongos, constatou que a associação de adrenalina e felipressina às soluções anestésicas diminuía a freqüência das convulsões e da PRO. A felipressina aumentou o tempo de latência e diminuiu a duração do efeito tóxico, e em muitos animais estes sinais desapareceram por completo.

YAGIELA & MADSEN (1982) injetaram intravenosamente, em ratos, lidocaína marcada com carbono 14, com e sem adrenalina e chegaram à conclusão de que a adrenalina associada à lidocaína provocava aumento da proporção do anestésico local com acesso ao Sistema Nervoso Central.

YAGIELA (1985), estudando em ratos a toxicidade (DL₅₀) da lidocaína sem vasoconstritor, demonstrou que ela era maior pela via intravenosa que pela via intra-arterial. Os resultados obtidos foram: via intravenosa [veia femoral - DL₅₀ e intervalo de confiança - $27,8$ mg/kg ($25,6 - 30,6$)] e via intra-arterial [artéria carótida interna - DL₅₀ e intervalo de confiança - $45,0$ mg/kg ($32,0 - 60,2$)]. Com a adição de adrenalina 1:100.000 à lidocaína, ocorreu um aumento da toxicidade por ambas as vias,

permanecendo maior para a via intravenosa. Os resultados obtidos foram : intravenosa - 18,4 mg/Kg (14,1 - 24,0), intra-arterial - 27,0 mg/Kg (23,3 - 32,0). Porém, quando a adrenalina foi injetada isoladamente mostrou-se mais tóxica pela via intra-arterial. Os resultados obtidos foram: intravenosa - 76,7µg/kg e intra-arterial - 24,5 µg/Kg.

TAYLOR & DORRIS (1989), em estudo de toxicidade (DL_{50} e DC_{50}) feito em camundongos por via intravenosa obtiveram os seguintes dados para a DL_{50} da lidocaína : sem vasoconstritor 20,4 mg/kg (18,9 - 22,0), com adrenalina 18,6 mg/kg (16,7 - 20,7), com levonordefrina 21,6 mg/kg (19,6 - 23,8) e para a DC_{50} da lidocaína : sem vasoconstritor 17,4 mg/kg (15,8 - 19,0), com adrenalina 13,8 mg/kg (11,6 - 15,8), com levonordefrina 15,4 mg/kg (11,4 - 18,4). Eles concluíram que a associação tanto de um quanto de outro vasoconstritor não causou modificações significativas nos testes de toxicidade.

Observou ainda, neste estudo, que, em ratos, a adrenalina causou aumento de letalidade da lidocaína em 76%. Isso veio a comprovar as conclusões de YAGIELA (1985). Os resultados obtidos para DL_{50} de lidocaína por via intravenosa foram: sem vasoconstritor 20,1 mg/kg (17,9 - 23,2), com adrenalina 11,4 mg/kg (8,5 - 13,3) e com levonordefrina 18,6 mg/kg (14,9 - 22,4). Não houve efeito estatisticamente significativo na DL_{50} da lidocaína com a associação de levonordefrina.

VOLPATO (1995), estudando a toxicidade (DL_{50} e DC_{50} , latência da PRO e da convulsão e duração da convulsão) em camundongos Swiss, espécie *Mus-musculus* através de injeção subcutânea de lidocaína 2% e prilocaína 3% associados a várias combinações de 2 vasoconstritores em diferentes concentrações (adrenalina + felipressina) obteve como uma das conclusões que a adrenalina aumenta a toxicidade da lidocaína e prilocaína, embora neste modelo experimental não tenha sido observada diferença estatística quando comparado com a lidocaína sem vasoconstritor. Outra afirmação da autora é que a felipressina não parece alterar a toxicidade dos anestésicos locais estudados, provavelmente devido a sua baixa toxicidade intrínseca.

4.3 REVISÃO SOBRE ASSOCIAÇÃO DE VASOCONSTRITORES

Como já vimos, a associação de um anestésico local com um vasoconstritor (adrenalina) foi testada em 1901, por BRAUM, pela primeira vez. Não muito tempo depois KEPINOW, 1912 e BÖRNER, 1915, começaram a observar a potenciação da resposta vasopressora das aminas simpatomiméticas (adrenalina e noradrenalina) pelo extrato de neuro-hipófise.

Alguns anos após, STAVRAKY & OLIVER (1952), usando como modelo experimental gatos com secção de medula, através de hipofisectomia ou decapitação, observaram uma diminuição da resposta

vasopressora à adrenalina. Observaram ainda que com a administração intravenosa de extrato de hipófise posterior, em quantidades subclínicas, antes ou juntamente com a adrenalina, ocorria restauração completa da efetividade desta, com aumento da pressão arterial.

Em 1965, BARTELSTONE & NASMYTH, usando diferentes modelos experimentais (cães com parte do sistema venoso separado do sistema arterial, momentaneamente, e aorta isolada de rato, gato e rato com secção de medula espinal e destruição do encéfalo), observaram que a vasopressina potenciava as respostas da noradrenalina, mesmo em menores doses que as liberadas endogenamente. Ficou claro neste estudo que a potenciação era devido a uma ação periférica e não central.

A partir da década de 60, um novo grupo de substâncias derivadas da vasopressina (felipressina) passou a ser sintetizado. Desde então, pesquisas envolvendo a associação dessas substância com aminas simpatomiméticas começaram a ser realizadas.

Essas associações, utilizando dois vasoconstritores (um derivado da vasopressina e uma amina simpatomimética), visavam à obtenção de uma vasoconstrição eficiente aliada a uma diminuição da toxicidade.

Com este propósito ALTURA et al, em 1965, usando vasos do mesoapêndice de ratos, observaram que a felipressina, quando injetada intravascularmente (0,01 - 0,1 UI / 2 ml de salina), causava potenciação das respostas constritoras da noradrenalina (0,10 ug) e da adrenalina (0,05 ug) quando estas eram aplicadas topicamente nos vasos citados acima.

Algum tempo depois, em 1973, WATERSON & HUME, usando como modelo experimental artéria isolada da orelha de coelho, reafirmaram os achados anteriores, observando que a ornitina, em concentrações subconstritoras, potenciava a ação vasoconstritora da noradrenalina aplicada na superfície externa da referida artéria.

Dando continuidade às suas pesquisas, WATERSON (1974) observou que a ornitina também potenciava a ação vasoconstritora da adrenalina. Neste experimento, WATERSON usou artéria isolada da orelha de coelho e orelha isolada de coelho e, neste último modelo experimental, notou maior vasoconstrição concluindo que a ação da ornitina era mais intenso no leito vascular não arterial.

O mesmo pesquisador (WATERSON, 1975), trabalhando com os mesmos modelos experimentais anteriores sendo que, a artéria isolada da orelha de coelho, neste estudo podia ser perfundida pelas soluções - teste seletivamente, tanto na superfície externa quanto na interna, observou que a ação da ornitina em potencializar a vasoconstrição era mais acentuada quando associada à adrenalina (aumento de 4,22 vezes \pm 0,99) do que com a noradrenalina (aumento de 1,81 vezes \pm 0,05). Além de confirmar, neste estudo, as conclusões do trabalho anterior.

Em 1976, FROST et al, também pesquisando as ações da felipressina, usaram como modelo experimental segmentos da cauda de ratos com canulação da artéria central, sendo as soluções - teste

aplicadas por infusão e intraluminalmente. Estes pesquisadores observaram que doses repetidas de felipressina levavam à taquifilaxia; o pré - tratamento com reserpina diminuía a resposta inicial à felipressina, mas não alterava de forma significativa o desenvolvimento de taquifilaxia. A felipressina potenciava as respostas a administração em dose única de adrenalina, noradrenalina e serotonina. Foi observado ainda o aumento da resposta ao estímulo elétrico com doses subconstritoras de felipressina. Por estas conclusões, os autores sugeriram que a felipressina podia estar relacionada com a liberação neuronal de noradrenalina.

GERKE et al (1977a) também estudaram a potenciação da noradrenalina e adrenalina pela felipressina, usando como modelo experimental artéria isolada da orelha de coelho. Obtiveram como resultado a potenciação das ações da noradrenalina e adrenalina (aplicadas intra ou extraluminalmente) pela felipressina (aplicada extraluminalmente). Observaram também que, quando a felipressina atingia uma concentração ótima (0,001 UI/ml), um aumento da concentração não causava um aumento significativo da potenciação. Observaram ainda que o tratamento prévio da artéria com acetato de deoxicorticosterona (inibidor da recaptação tecidual de noradrenalina), com nialamida (bloqueador da enzima monoamino oxidase) ou a desnervação cirúrgica (gangliotomia simpática cervical superior) não alterava a potenciação da ação da noradrenalina e da adrenalina pela felipressina, concluindo que a ação da felipressina não ocorre através da enzima monoamino oxidase e nem da recaptação neuronal ou extra-neuronal. Ficou claro, neste trabalho, que a ação da felipressina em potenciar a vasoconstrição da noradrenalina e adrenalina é específica.

GERKE et al (1978), usando novamente como modelo experimental a artéria isolada da orelha de coelho, fizeram vários experimentos com adrenalina e felipressina. Observaram que, quando a adrenalina a 1:80.000 era associada à felipressina 0,01 ou 0,001 UI/ml (tanto com lidocaína a 2% quanto com prilocaína a 3%) ocorria uma potenciação da ação vasoconstritora. No entanto, quando a adrenalina a 1:300.000 era associada à felipressina, ocorria potenciação significativa somente com a lidocaína a 2%.

Num segundo momento do experimento os autores utilizaram as soluções convencionais (lidocaína a 2%, associada a adrenalina 1:80.000 e prilocaína a 3%, associada a adrenalina 1:300.000) e observaram que a felipressina na concentração de 0,001 UI/ml levou a um aumento considerável da resposta constritora. Com esses resultados, os autores sugeriram que o uso dessas associações deveriam ser em doses subconstritoras para diminuir os efeitos tóxicos das mesmas.

ALMASI & FREWIN (1980), usando como modelo experimental língua de rato, com o objetivo de observar a retenção de anestésicos locais, injetaram lidocaína a 2% e prilocaína a 3% marcadas com trítio (H_3), na presença de vários vasoconstritores. Eles observaram que a prilocaína a 3%, apenas na presença de adrenalina 1:80.000, apresentou maior retenção. A lidocaína tanto na presença de adrenalina 1:100.000 quanto de 1:80.000 apresentou retenção maior da solução no local da injeção, sendo que no tempo de 16

minutos após a injeção, a solução com adrenalina 1:100.000 apresentou uma retenção maior da lidocaína do que a solução com adrenalina 1:80.000.

Neste mesmo trabalho, os pesquisadores compararam os mesmos anestésicos locais com adrenalina 1:100.000, felipressina 0,00015 UI/ml e uma associação desses dois vasoconstritores. Observaram que a prilocaína sofria uma retenção significativamente maior no tempo de 32 minutos, na presença dos dois vasoconstritores associados, quando era comparada à solução que continha somente felipressina a 0,00015 UI/ml ou à solução contendo anestésico local sem vasoconstritor. Em relação a solução contendo adrenalina 1:100.000, a retenção de prilocaína somente apresentou-se maior aos 16 minutos após a injeção. Observaram ainda que, em relação a lidocaína, só ocorreu aumento considerável na retenção do anestésico local no tempo de 32 minutos, quando comparado ao controle (anestésico local sem vasoconstritor) e na presença da associação dos dois vasoconstritores.

BASTOS (1985), usando dorso de cobaia (*Cavia porcellus*), observou que a felipressina causava potenciação da adrenalina ao analisar o tempo de anestesia da prilocaína a 3%. Ele concluiu que a duração da anestesia era maior quando o anestésico local era associado a combinações diferentes desses dois vasoconstritores.

RANALI (1990) também observou, através de estudo comparativo entre a solução de bupivacaína a 0,25% contendo adrenalina a 1:200.000 associada à felipressina a 0,03 UI/ml e a solução de bupivacaína a 0,5% com adrenalina a 1:200.000, que o tempo de latência e a analgesia pós-operatória foram semelhantes entre si e que a duração da analgesia, obtida com a bupivacaína a 0,5% com adrenalina a 1:200.000, foi pouco maior que a da outra solução em estudo.

RANALI et al (1992), em estudo da toxicidade da associação de dois vasoconstritores (adrenalina a 1:100.000 e a felipressina a 0,03 UI/ml) com a bupivacaína a 0,25% em comparação com a solução contendo apenas um vasoconstritor (adrenalina 1:200.000) com a bupivacaína a 0,5%, observaram que não houve diferença considerável na pressão arterial de cães, com a administração intravenosa ou intra-bucal das soluções. Porém, os pesquisadores observaram um aumento com significância estatística na pressão sistólica dos cães em relação aos valores de repouso após 1 minuto da aplicação intravenosa das duas soluções em estudo.

VOLPATO (1995), usando camundongo Swiss (espécie *Mus-musculus*), estudou a toxicidade (DL_{50} e DC_{50}) da associação de 2 vasoconstritores (felipressina e adrenalina), em diferentes concentrações, com prilocaína a 3% ou lidocaína a 2%. Observou que, em relação a DL_{50} , tanto para a lidocaína quanto para a prilocaína, as soluções que continham adrenalina, em maior concentração, foram as mais tóxicas. Em relação a DC_{50} , os resultados foram opostos, ou seja, as soluções contendo maior concentração de adrenalina promoveram maior proteção ao animal, bem como a solução de felipressina a 0,03 UI/ml.

Na segunda parte de seu estudo, a pesquisadora observou que em relação à lidocaína ocorreu um aumento da latência da PRO para todas as soluções contendo vasoconstritor. A latência da convulsão foi aumentada de forma mais significativa pelos grupos com maior concentração de adrenalina, bem como pela solução contendo lidocaína a 2% com felipressina a 0,03 UI/ml. Para a prilocaína não foram observadas diferenças entre os grupos tanto para a latência da PRO como para a latência e duração da convulsão.

Estes resultados permitiram a ela concluir que, em termos de toxicidade, dentro do modelo experimental estudado, não há vantagem na associação de dois vasoconstritores como a adrenalina e felipressina aos anestésicos locais.

5. PROPOSIÇÃO

Com o objetivo de buscar soluções anestésicas locais menos tóxicas que as já existentes no mercado farmacêutico e, baseando-nos em trabalhos que sugerem a existência de potenciação da ação constritora das aminas simpatomiméticas quando associadas à felipressina, nos propusemos neste trabalho a avaliar a toxicidade aguda da lidocaína e prilocaína, quando administradas em associação com uma combinação de noradrenalina e felipressina.

Para isso, serão determinados os seguintes parâmetros:

- 1) Dose Letal 50%;
- 2) Dose Convulsiva 50%;
- 3) Latência da Perda do Reflexo de Orientação;
- 4) Latência da Convulsão;
- 5) Duração da Convulsão .

6. MATERIAL E MÉTODOS

Para avaliar a toxicidade aguda dos anestésicos locais (lidocaína e prilocaína) em associação com diferentes concentrações de dois vasoconstritores (noradrenalina e felipressina), usamos o estudo da determinação do valor da dose letal em 50% da população (DL_{50}) e da dose convulsiva em 50% da população (DC_{50}).

Quando doses crescentes de uma substância são administradas a lotes de indivíduos que pertencem à mesma população, a relação entre dose e efeito aparece modificada pela diferente sensibilidade dos indivíduos à droga. Quando se considera a avaliação quantitativa da atividade de uma droga, é importante a relação entre dose e porcentagem do aparecimento do efeito. Embora a atividade de uma droga varie com o indivíduo e com a dose, é possível defini-la quantitativamente com precisão. O critério adotado é a determinação da dose capaz de agir em 50% da população considerada. A dose capaz de causar um determinado efeito em 50% da população é a que fornece indicação quantitativa mais precisa sobre a atividade de uma substância. Se o efeito considerado for a morte, ter-se-á dose letal 50% - DL_{50} e se for a convulsão, ter-se-á a dose convulsiva - DC_{50} (CORBETT, 1973).

Além da DL_{50} e DC_{50} , foram avaliados os períodos de latência para a perda de reflexo da orientação (PRO) e para a convulsão, bem como a duração da convulsão.

Para este estudo foram usados os seguintes grupos de drogas:

1. Grupo $PF_1 N_{50}$ - Prilocaína a 3% + Felipressina 0,01 UI/ml + Noradrenalina 1: 50.000
2. Grupo $PF_1 N_{100}$ - Prilocaína a 3% + Felipressina 0,01 UI/ml + Noradrenalina 1:100.000
3. Grupo $PF_1 N_{150}$ - Prilocaína a 3% + Felipressina 0,01 UI/ml + Noradrenalina 1:150.000
4. Grupo $LF_1 N_{50}$ - Lidocaína a 2% + Felipressina 0,01 UI/ml + Noradrenalina 1: 50.000
5. Grupo $LF_1 N_{100}$ - Lidocaína a 2% + Felipressina 0,01 UI/ml + Noradrenalina 1:100.000
6. Grupo $LF_1 N_{150}$ - Lidocaína a 2% + Felipressina 0,01 UI/ml + Noradrenalina 1:150.000
7. Grupo PN_{50} - Prilocaína a 3% + Noradrenalina 1 : 50.000
8. Grupo LN_{50} - Lidocaína a 2% + Noradrenalina 1 : 50.000
9. Grupo PF_3 - Prilocaína a 3% + Felipressina 0,03 UI/ml
10. Grupo LF_3 - Lidocaína a 2% + Felipressina 0,03 UI/ml
11. Grupo L - Lidocaína a 2%
12. Grupo P - Prilocaína a 3%
13. Grupo Água Destilada
14. Grupo $F_1 N_{50}$ - Felipressina 0,01 UI/ml + Noradrenalina 1: 50.000

15. Grupo F₁ N₁₀₀ - Felipressina 0,01 UI/ml + Noradrenalina 1: 100.000
16. Grupo F₁ N₁₅₀ - Felipressina 0,01 UI/ml + Noradrenalina 1: 150.000
17. Grupo F₃ - Felipressina 0,03 UI/ml
18. Grupo N₅₀ - Noradrenalina 1 : 50.000
19. Grupo H - Solução de Noradrenalina 2 mg/ml.

* As soluções 1 a 12 e 14 a 19 foram cedidas pelo laboratório Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda.

* As soluções 13 e 19 foram preparadas antes do experimento com água recém - destilada e Arterenol PA (Norepinephrine PA) Sigma.

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

6.1 ESTUDO DA DOSE LETAL (DL₅₀) E DA DOSE CONVULSIVA (DC₅₀)

Neste experimento foram utilizados 1840 camundongos (espécie *Mus musculus*) machos, linhagem Swiss spf., procedentes do Centro Multi - Institucional de Bioterismo da UNICAMP (CEMIB), pesando entre 17 e 22 g, os quais foram alimentados com ração Labina e água à vontade.

Os camundongos foram divididos aleatoriamente em grupos de 10 animais, por gaiola, para cada dose . A seguir, cada animal foi pesado (balança digital eletrônica Tecnal - modelo TEP 1000) , sendo considerada uma casa após a vírgula . Após a pesagem , era feito o cálculo da dose em função do peso do animal, sendo consideradas duas casas decimais.

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

Para as soluções 1 a 12 (tanto para a dose convulsiva quanto para a dose letal) e 19 (para a dose letal) foram feitas várias doses (anexos 1,2,3,4 e 5), sendo que nas soluções de 1 a 12 a dose se referia ao sal anestésico, enquanto na solução 19 estava relacionada ao vasoconstritor.

As soluções 13 a 18 foram utilizadas apenas no volume equivalente ao da maior dose injetada nos respectivos grupos 1 a 12 , apenas para observação de uma possível reação tóxica dos vasoconstritores ou do veículo no volume utilizado (soluções controle).

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

6.2 DETERMINAÇÃO DOS PERÍODOS DE LATÊNCIA PARA PERDA DE REFLEXO DE ORIENTAÇÃO (PRO), CONVULSÃO E DURAÇÃO DA CONVULSÃO.

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

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

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

Observamos os animais por 01 hora ou até retornarem completamente ao normal (movimentação e resposta a estímulo semelhante ao período pré-tratamento).

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

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

O período de latência para a PRO foi contado a partir da injeção da solução no camundongo até o aparecimento dos sinais que indicavam a perda do referido reflexo.

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

6.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Utilizamos o ensaio tipo dose-resposta para os estudos de DC_{50} e DL_{50} e a análise de dados censurados (ou análise de dados de sobrevivência) para o estudo das latências da perda do reflexo de orientação (PRO) e da convulsão e duração da convulsão.

6.3.1. Ensaio Tipo Dose Resposta (DC_{50} e DL_{50}).

Nesse tipo de ensaio uma determinada droga é administrada em diferentes doses (em nosso estudo usamos 5 ou mais doses para cada grupo de droga) à grupos de indivíduos (em nosso estudo usamos grupos de 10 animais), obtendo-se como resposta, após um período determinado, indivíduos que mudam de estado (morte, convulsão, etc.). Os modelos mais comumente usados para esse fim são logístico, "probit" e complemento log-log que são casos especiais de uma classe chamada modelos lineares generalizados (McCULLAGH & NELDER, 1989). Para escolha do modelo a ser usado é necessário observar em qual deles o conjunto de dados se ajusta melhor e isto pode ser feito através do pacote estatístico GLIM (PAYNE, 1986). No presente trabalho o modelo que melhor se ajustou foi o logístico, usando-se \ln (dose).

A comparação dos estudos do tipo dose-resposta entre os grupos foi feita através de intervalos de confiança. Os métodos mais comumente usados para a construção de intervalos de confiança para doses efetivas são os de Delta e Fieller (COLLET, 1991; MORGAN, 1992). Neste trabalho o método de Fieller mostrou-se mais rigoroso, portanto as comparações entre os grupos foram feitas através dele.

Foram considerados estatisticamente diferentes, os grupos sem pontos em comum.

6.3.2. Análise de Dados Censurados.

Utilizamos esse tipo de análise porque nem todos os camundongos apresentaram PRO ou convulsão. Neste estudo as censuras se referem a isto.

Primeiramente aplicamos uma técnica não paramétrica, o estimador produto limite de Kaplan - Meier (LAWLESS, 1982). Através dessa técnica obtivemos para cada variável resposta (latência da PRO, latência da convulsão e duração da convulsão) as respectivas curvas de probabilidade de latência e duração em função do tempo.

Após comparamos os grupos quanto às variáveis - respostas através do teste de Log - Rank (LAWLESS, 1982).

Para verificarmos a semelhança/diferença entre os grupos nos baseamos na análise das curvas de probabilidade de latência (para PRO e convulsão) e duração da convulsão, em função do tempo.

7. RESULTADOS

As soluções anestésicas compostas por lidocaína a 2% ou prilocaína a 3%, associadas ou não aos vasoconstritores noradrenalina e felipressina em diferentes concentrações, foram administradas em camundongos, por via subcutânea, para observação da diferença de toxicidade aguda (DL_{50} , DC_{50}) entre elas.

Os resultados obtidos neste experimento estão resumidos nos Anexos 1 e 2 (páginas 48 e 49 - estudo da dose letal para o grupo contendo lidocaína e prilocaína, respectivamente), 3 (página 50 - estudo da dose letal para a noradrenalina) 4 e 5 (páginas 51 e 52 - estudo da dose convulsiva para os grupos contendo lidocaína e prilocaína, respectivamente) 6 e 7 (páginas 53 e 54 - tempo de latência da PRO e convulsão e duração da convulsão para os grupos contendo lidocaína e prilocaína, respectivamente).

7.1. RESULTADOS DA ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS OBTIDOS NO EXPERIMENTO DE DOSE LETAL.

O ajuste do modelo logístico para a DL_{50} dos grupos contendo lidocaína encontra-se na tabela 1, enquanto para os grupos contendo prilocaína encontra-se na tabela 3.

Nas tabelas 2 (lidocaína) e 4 (prilocaína) estão os resultados da estimativa de DL_{50} (em mg/kg), bem como o erro padrão, os intervalos de confiança de 95% de probabilidade e as equações das retas para cada um dos grupos.

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

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

TABELA 1. Ajuste do modelo logístico de DL₅₀ para os grupos que continham lidocaína como anestésico local (GL = graus de liberdade; Dev. = “deviance”; Reg. = regressão; Res. = resíduo).

	LF ₁ N ₅₀		LF ₁ N ₁₀₀		LF ₁ N ₁₅₀		LN ₅₀		LF ₃		L	
	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.
Reg.	1	24,86	1	26,78	1	28,44	1	25,68	1	18,84	1	29,64
Res.	6	3,08	6	2,75	5	9,22	5	2,27	4	3,16	3	3,50
Total	7	27,94	7	29,53	6	37,66	6	27,95	5	22,00	4	33,14

$$\chi^2_{1,0,05} = 3,84 ; \chi^2_{3,0,05} = 7,82 ; \chi^2_{4,0,05} = 9,49 ; \chi^2_{5,0,05} = 11,1 ; \chi^2_{6,0,05} = 12,6$$

TABELA 2. Estimativas das Doses Letais 50% (DL₅₀), expressas em mg/kg de peso corporal, via subcutânea, erro padrão (e.p.), equações das retas e intervalo de confiança (95%) dos grupos experimentais que apresentam a lidocaína como agente anestésico.

Grupos	Equações	DL ₅₀ (ep) mg/kg	Intervalo de Confiança	
			Delta	FIELLER
LF ₁ N ₅₀	-47,87 + 9,46 ln(d)	157,5 (4,49)	(149,0 ; 166,6)	(146,8 ; 166,8)
LF ₁ N ₁₀₀	-55,98 + 11,18 ln(d)	149,5 (3,66)	(142,5 ; 156,9)	(139,2 ; 157,0)
LF ₁ N ₁₅₀	-34,99 + 6,73 ln(d)	181,4 (8,93)	(164,7 ; 199,8)	(156,3 ; 197,9)
LN ₅₀	-21,68 + 4,30 ln(d)	154,7 (10,82)	(134,8 ; 177,4)	(130,2 ; 178,2)
LF ₃	-42,63 + 7,88 ln(d)	224,5 (8,63)	(208,2 ; 242,0)	(204,6 ; 248,5)
L	-36,21 + 6,93 ln(d)	185,5 (10,78)	(165,5 ; 207,8)	(163,6 ; 212,9)

Gráfico 1. Intervalos de confiança (95%) obtidos pelo método DELTA para DL₅₀ dos grupos contendo lidocaína como anestésico.

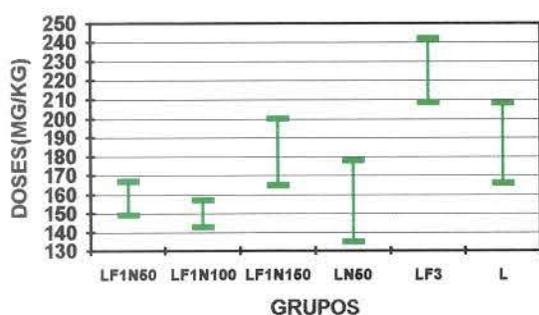
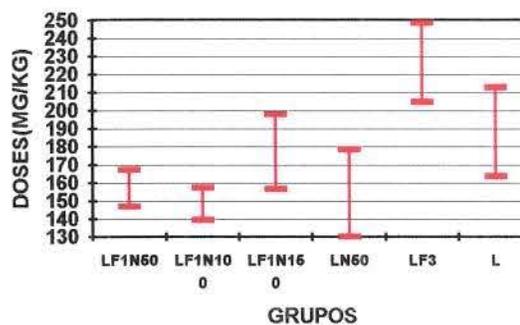


Gráfico 2. Intervalos de confiança (95%) obtidos pelo método FIELLER para DL₅₀ dos grupos contendo lidocaína como anestésico.



Quadro 1. Resultados das comparações dos intervalos de confiança obtidos pelo método DELTA para DL₅₀ dos grupos contendo lidocaína.

GRUPO	
LF ₃	a
L	b
LF ₁ N ₁₅₀	b
LF ₁ N ₅₀	bc
LN ₅₀	bc
LF ₁ N ₁₀₀	c

Quadro 2. Resultados das comparações dos intervalos de confiança obtidos pelo método FIELLER para DL₅₀ dos grupos contendo lidocaína.

GRUPO	
LF ₃	a
L	ab
LF ₁ N ₁₅₀	bc
LF ₁ N ₅₀	bc
LN ₅₀	bc
LF ₁ N ₁₀₀	c

* letras diferentes indicam diferença estatística

TABELA 3. Ajuste do modelo logístico para a DL₅₀ dos grupos que continham prilocaína como anestésico local (GL = graus de liberdade; Dev. = "deviance"; Reg. = regressão; Res. = residuo).

	PF ₁ N ₅₀		PF ₁ N ₁₀₀		PF ₁ N ₁₅₀		PN ₅₀		PF ₃		P	
	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.
Reg.	1	28,13	1	19,49	1	28,01	1	33,01	1	25,73	1	23,36
Res.	8	3,35	6	9,67	4	2,42	6	5,33	7	7,71	7	4,01
Total	9	31,48	7	29,16	5	30,43	7	38,34	8	33,44	8	27,37

$$\chi^2_{1,0,05} = 3,84 ; \chi^2_{4,0,05} = 9,49 ; \chi^2_{3,0,05} = 11,1 ; \chi^2_{6,0,05} = 12,6 ; \chi^2_{7,0,05} = 14,1 ; \chi^2_{8,0,05} = 15,5$$

TABELA 4. Estimativas das Doses Letais 50% (DL₅₀), expressas em mg/kg de peso corporal, via subcutânea, erro padrão (e. p.), equações das retas e intervalo de confiança (95%) dos grupos experimentais que apresentavam a prilocaína como agente anestésico.

Grupos	Equações	DL ₅₀ (e.p.) em mg/kg	Intervalo de Confiança	
			Delta	FIELLER
PF ₁ N ₅₀	-23,85 + 4,07 ln(d)	349,3 (20,83)	(310,7 ; 392,6)	(311,6 ; 405,4)
PF ₁ N ₁₀₀	-13,92 + 2,35 ln(d)	377,9 (41,76)	(304,3 ; 469,3)	(288,7 ; 475,0)
PF ₁ N ₁₅₀	-30,08 + 4,90 ln(d)	463,7 (31,66)	(405,6 ; 530,1)	(398,9 ; 546,2)
PN ₅₀	-25,83 + 4,23 ln(d)	451,9 (30,23)	(396,3 ; 515,2)	(393,0 ; 527,5)
PF ₃	-27,51 + 4,32 ln(d)	581,3 (32,91)	(520,3 ; 649,6)	(510,5 ; 658,0)
P	-28,83 + 4,50 ln(d)	602,6 (32,24)	(542,6 ; 669,2)	(534,4 ; 681,3)

Gráfico 3. Intervalos de confiança (95%) obtidos pelo método DELTA para DL₅₀ dos grupos contendo prilocaína como anestésico.

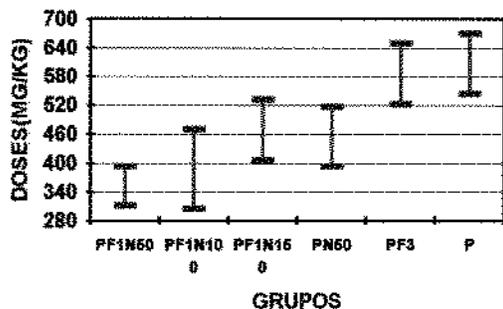
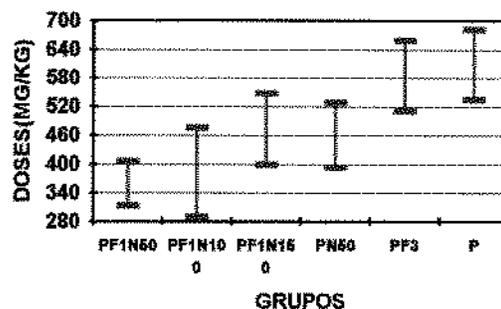


Gráfico 4. Intervalos de confiança (95%) obtidos pelo método FIELLER para DL₅₀ dos grupos contendo prilocaína como anestésico.



Quadro 3. Resultados das comparações dos intervalos de confiança obtidos pelo método DELTA para DL₅₀ dos grupos contendo prilocaína.

GRUPO	
P	a
PF ₃	ab
PF ₁ N ₁₅₀	bc
PN ₅₀	c
PF ₁ N ₁₀₀	cd
PF ₁ N ₅₀	d

Quadro 4. Resultados das comparações dos intervalos de confiança obtidos pelo método FIELLER para DL₅₀ dos grupos contendo prilocaína.

GRUPO	
P	a
PF ₃	ab
PF ₁ N ₁₅₀	abc
PN ₅₀	bc
PF ₁ N ₁₀₀	c
PF ₁ N ₅₀	c

* letras diferentes indicam diferença estatística

Na tabela 5 é mostrado o ajuste do modelo logístico para a DL₅₀ da noradrenalina. E a tabela 6 expressa a estimativa de DL₅₀ (em mg/kg), o erro padrão, o intervalo de confiança com coeficiente de confiança de 95% de probabilidade (pelos métodos DELTA e FIELLER) e a equação da reta para a noradrenalina.

Tabela 5. Ajuste do modelo logístico de DL₅₀ para solução de noradrenalina (GL = graus de liberdade ; Dev. = "deviance"; Reg. = regressão; Res. = resíduo).

	G.L.	Dev.
Reg.	1	38,87
Res.	9	8,77
Total	10	47,64

$$\chi^2_{1,0,05} = 3,84 ; \chi^2_{9,0,05} = 16,9$$

Tabela 6. Estimativa da Dose Letal 50% (DL₅₀), expressa em mg/kg de peso corporal, via subcutânea, erro padrão (e.p.), equação da reta e intervalo de confiança (95%) da solução de noradrenalina 2 mg/ml (grupo 19).

Grupos	Equação	DL ₅₀ (e.p.) em mg/kg	Intervalo de Confiança (mg/kg)	
			Delta	FIELLER
Noradrenalina	4,104 + 1,876 ln(d)	8,910 (1,096)	(7,001 ; 11,34)	(6,850 ; 11,54)

Não foram observadas alterações de qualquer natureza nos grupos controle (F₁N₅₀, F₁N₁₀₀, F₁N₁₅₀, F₃, N₅₀ e grupo 13).

7.2. RESULTADOS DA ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS OBTIDOS NO EXPERIMENTO DE DOSE CONVULSIVA

Nas tabelas 7 e 9 encontram-se os dados obtidos para o ajuste do modelo logístico de DC₅₀ dos grupos que continham lidocaina e prilocaína, respectivamente.

As estimativas de DC₅₀ (em mg/kg), assim como o erro padrão, os intervalos de confiança com um coeficiente de confiança de 95% de probabilidade e as equações das retas para cada um dos grupos estão apresentados nas tabelas 8 e 10 para soluções contendo como sal anestésico a lidocaina e prilocaína, respectivamente.

Os intervalos de confiança obtidos pelos métodos DELTA e FIELLER são mostrados nos gráficos 5 e 6 (para os grupos contendo lidocaina) e 7 e 8 (para os grupos contendo prilocaína), possibilitando assim melhor visualização e comparação entre os grupos.

Tabela 7. Ajuste do modelo logístico de DC₅₀ para os grupos que continham lidocaina como anestésico local (GL = graus de liberdade; Dev "deviance"; Reg. = regressão; Res. = resíduo).

	LF ₁ N ₅₀		LF ₁ N ₁₀₀		LF ₁ N ₁₅₀		LN ₅₀		LF ₃		L	
	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.
Reg.	1	15,37	1	16,16	1	29,47	1	27,55	1	17,58	1	19,98
Res.	5	1,24	7	11,72	6	5,65	5	4,16	4	0,97	3	0,17
Total	6	16,61	8	27,88	7	35,12	6	31,71	5	18,55	4	20,14

$$\chi^2_{1;0,05} = 3,84 ; \chi^2_{3;0,05} = 7,82 ; \chi^2_{4;0,05} = 9,49 ; \chi^2_{5;0,05} = 11,1 ; \chi^2_{6;0,05} = 12,6 ; \chi^2_{7;0,05} = 14,1$$

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

Grupos	Equações	Dc50 (ep)	Intervalo de Confiança	
			Delta	FIELLER
LF ₁ N ₅₀	$-23,15 + 5,03 \ln(d)$	100,0 (5,41)	(89,9 ; 111,1)	(86,1 ; 112,3)
LF ₁ N ₁₀₀	$-18,45 + 4,07 \ln(d)$	93,4 (5,48)	(83,2 ; 104,8)	(83,0 ; 109,8)
LF ₁ N ₁₅₀	$-51,58 + 11,7 \ln(d)$	81,7 (1,98)	(77,9 ; 85,7)	(77,9 ; 87,0)
LN ₅₀	$-17,58 + 4,06 \ln(d)$	76,0 (5,71)	(65,6 ; 88,0)	(65,5 ; 92,0)
LF ₃	$-16,26 + 3,67 \ln(d)$	84,3 (7,02)	(71,6 ; 99,2)	(70,5 ; 104,9)
L	$-12,94 + 3,08 \ln(d)$	66,5 (7,60)	(53,2 ; 83,2)	(51,1 ; 87,2)

Gráfico 5. Intervalos de confiança (95%) obtidos pelo método DELTA para DC_{50} dos grupos contendo lidocaína como anestésico.

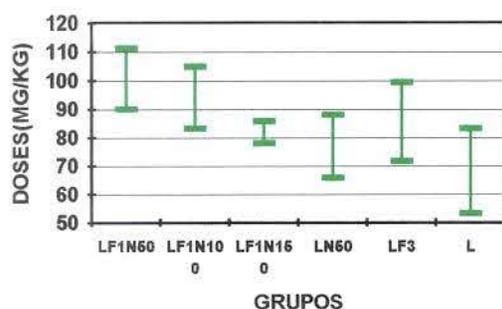
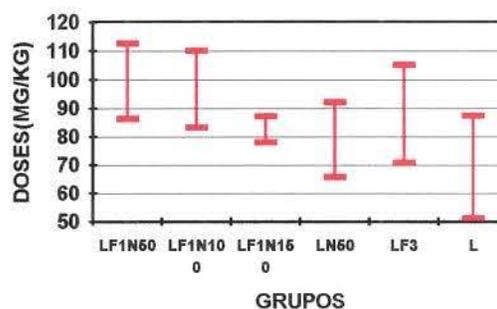


Gráfico 6. Intervalos de confiança (95%) obtidos pelo método FIELLER para DC_{50} dos grupos contendo lidocaína como anestésico.



Quadro 5. Resultados das comparações dos intervalos de confiança obtidos pelo método DELTA para DC_{50} dos grupos contendo lidocaína.

GRUPO	
LF ₁ N ₅₀	a
LF ₁ N ₁₀₀	ab
LF ₃	ab
LF ₁ N ₁₅₀	b
LN ₅₀	b
L	b

Quadro 6. Resultados das comparações dos intervalos de confiança obtidos pelo método FIELLER para DC_{50} dos grupos contendo lidocaína.

GRUPO	
LF ₁ N ₅₀	a
LF ₁ N ₁₀₀	a
LF ₃	a
LF ₁ N ₁₅₀	a
LN ₅₀	a
L	a

* letras diferentes indicam diferença estatística.

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

	PF ₁ N ₅₀		PF ₁ N ₁₀₀		PF ₁ N ₁₅₀		PN ₅₀		PF ₃		P	
	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.	G.L.	Dev.
Reg.	1	29,59	1	26,70	1	20,29	1	26,26	1	24,96	1	16,22
Res.	5	1,74	4	1,86	4	0,67	5	3,43	3	1,44	4	2,13
Total	6	31,33	5	28,56	5	20,96	6	29,69	4	26,40	5	18,35

$$\chi^2_{1,0,05} = 3,84 ; \chi^2_{3,0,05} = 7,82 ; \chi^2_{4,0,05} = 9,49 ; \chi^2_{5,0,05} = 11,1$$

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

Grupos	Equações	DC_{50} (ep)	Intervalo de Confiança	
			Delta	FIELLER
PF ₁ N ₅₀	-31,17 + 6,22 ln(d)	162,7 (8,09)	(147,6 ; 179,4)	(146,7 ; 183,1)
PF ₁ N ₁₀₀	-31,75 + 6,12 ln(d)	178,8 (9,95)	(160,4 ; 199,4)	(159,3 ; 205,3)
PF ₁ N ₁₅₀	-34,53 + 6,69 ln(d)	173,9 (8,06)	(158,8 ; 190,5)	(157,2 ; 195,4)
PN ₅₀	-35,01 + 6,80 ln(d)	172,0 (7,42)	(158,1 ; 187,2)	(156,7 ; 189,8)
PF ₃	-37,51 + 6,81 ln(d)	246,2 (13,60)	(220,9 ; 274,3)	(216,0 ; 279,4)
P	-22,78 + 4,28 ln(d)	204,3 (14,24)	(178,2 ; 234,3)	(174,5 ; 248,5)

Gráfico 7. Intervalos de confiança (95%) obtidos pelo método DELTA para DC_{50} dos grupos contendo prilocaína como anestésico.

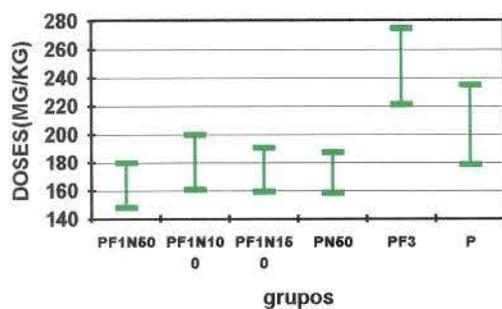
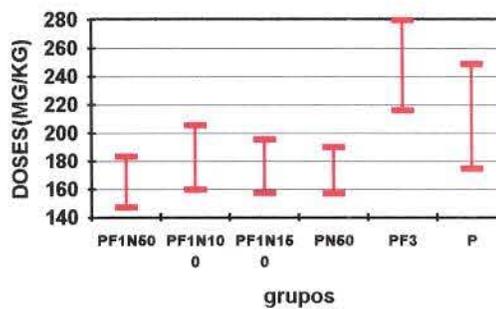


Gráfico 8. Intervalos de confiança (95%) obtidos pelo método FIELLER para DC_{50} dos grupos contendo prilocaína como anestésico.



Quadro 7. Resultados das comparações dos intervalos de confiança obtidos pelo método DELTA para DC₅₀ dos grupos contendo prilocaína.

GRUPO	
PF ₃	a
P	ab
PF ₁ N ₁₀₀	b
PF ₁ N ₁₅₀	b
PN ₅₀	b
PF ₁ N ₅₀	b

Quadro 8. Resultados das comparações dos intervalos de confiança obtidos pelo método FIELLER para DC₅₀ dos grupos contendo prilocaína.

GRUPO	
PF ₃	a
P	ab
PF ₁ N ₁₀₀	b
PF ₁ N ₁₅₀	b
PN ₅₀	b
PF ₁ N ₅₀	b

* letras diferentes indicam diferença estatística.

7.3 RESULTADOS DO ESTUDO DA LATÊNCIA DA PRO, LATÊNCIA DA CONVULSÃO E DURAÇÃO DA CONVULSÃO.

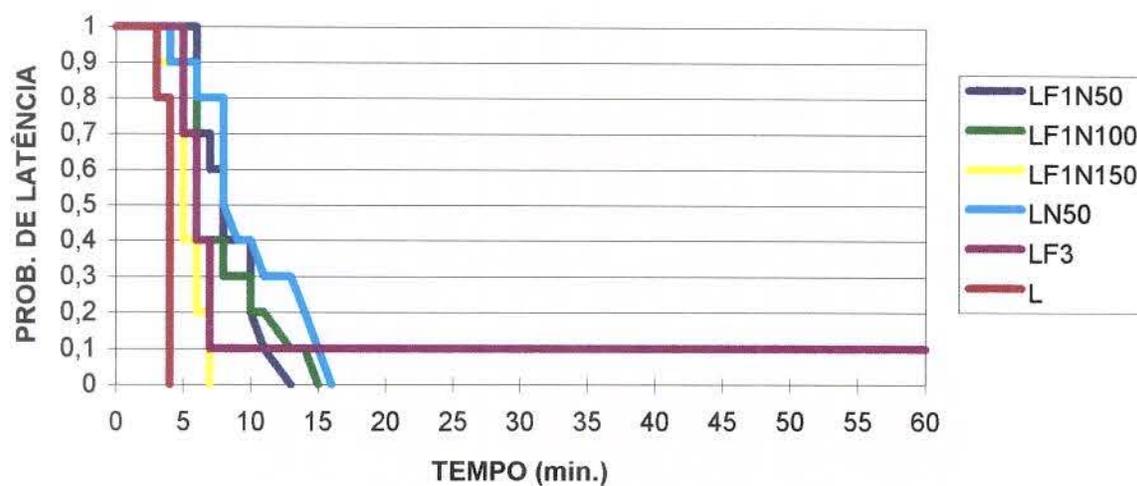
a) Grupos contendo Lidocaína como sal anestésico.

a.1.) Latência da PRO (gráfico 9)

Teste	Estatística χ^2	pr > χ^2
Log-Rank	62,45	0,0001

Houve diferença significativa entre os grupos. Pela análise do gráfico 9, observou-se que no grupo L (lidocaína 2%) o período de latência da PRO foi menor que os demais. O grupo LF₃ (lidocaína a 2% com felipressina a 0,03 UI/ml) teve um comportamento semelhante aos demais até o tempo de 7 minutos. A partir deste tempo, ainda havia uma probabilidade de 10% de um animal estar no estado latente (ou seja, não ter apresentado perda de reflexo de orientação - PRO) no tratamento LF₃.

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

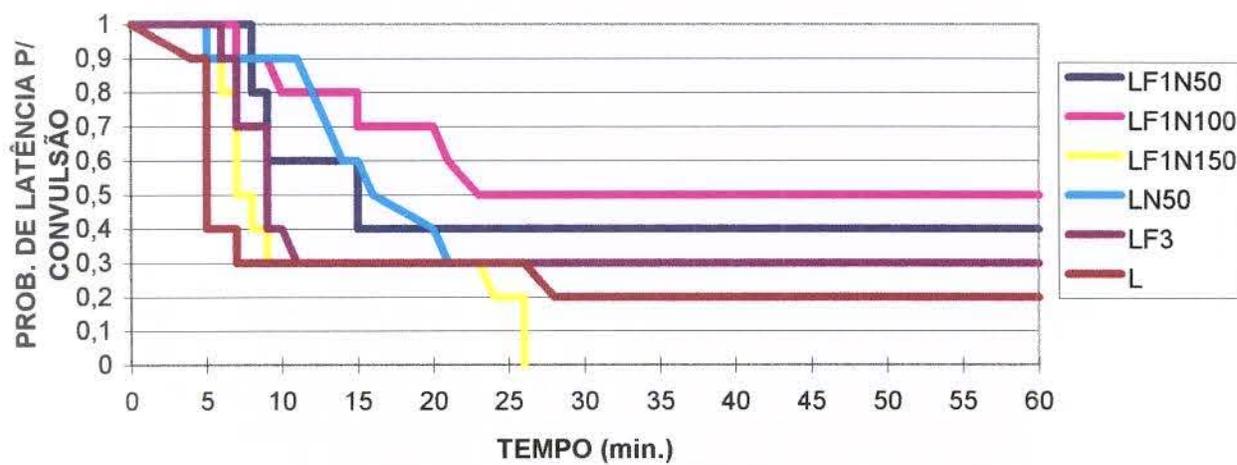


a₂) Latência da convulsão (gráfico 10)

Teste	Estatística χ^2	pr > χ^2
Log-Rank	10,09	0,0727

Não houve diferença significativa entre os grupos ($P > 0,05$).

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

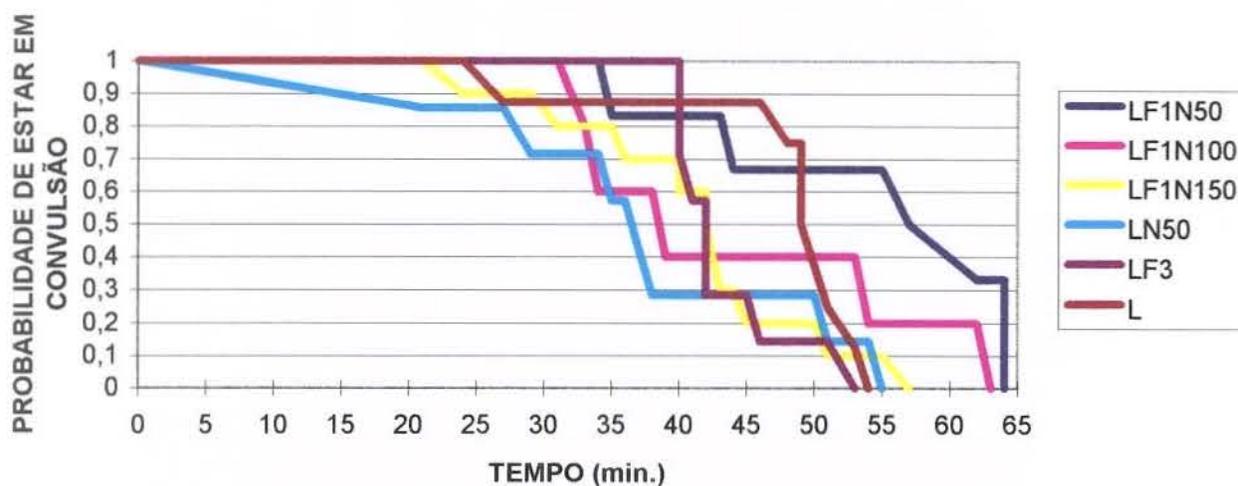


a₃) Duração da convulsão (gráfico 11).

Teste	Estatística χ^2	pr > χ^2
Log-Rank	10,69	0,0579

Não houve diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$).

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



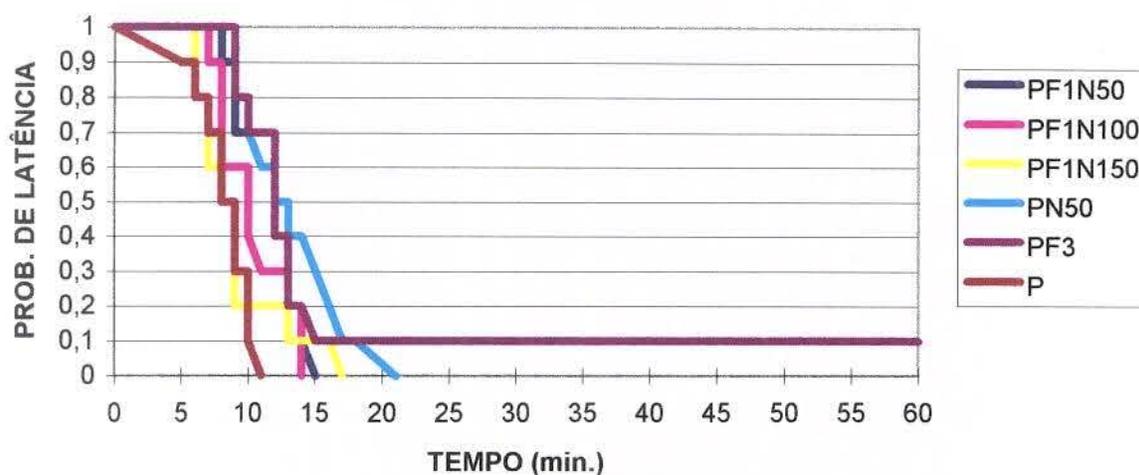
b) Grupos contendo prilocaína como sal anestésico.

b₁) Latência da PRO (gráfico 12)

Teste	Estatística χ^2	pr > χ^2
Log-Rank	19,58	0,0015

Houve diferença significativa entre os grupos. Pela análise do gráfico 12, observou-se que o grupo PF₃ (prilocaína a 3% com felipressina a 0,03 UI/ml) teve um comportamento semelhante aos demais grupos até o tempo de 15 minutos, a partir do qual havia uma probabilidade de 10% de um animal estar no estado latente.

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

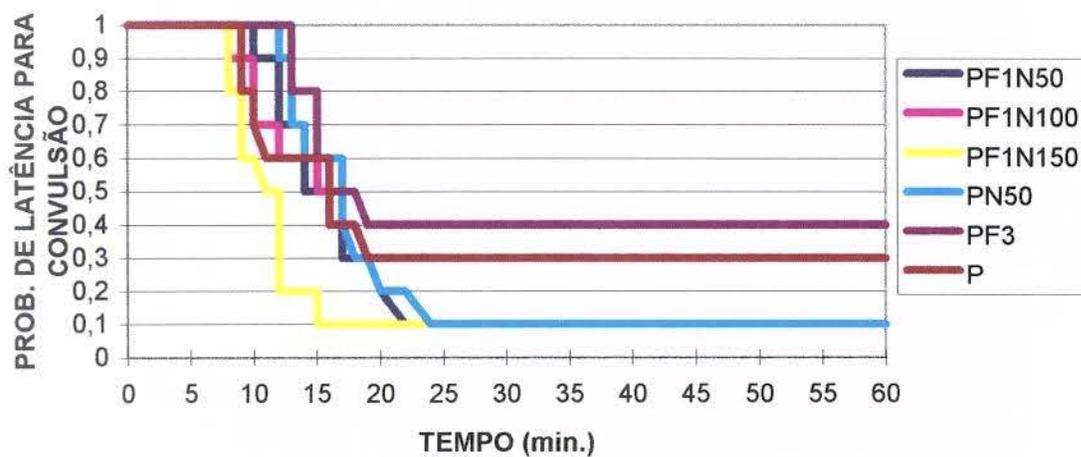


b₂) Latência da convulsão (gráfico 13).

Teste	Estatística χ^2	pr > χ^2
Log-Rank	9,59	0,0876

Não houve diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$).

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

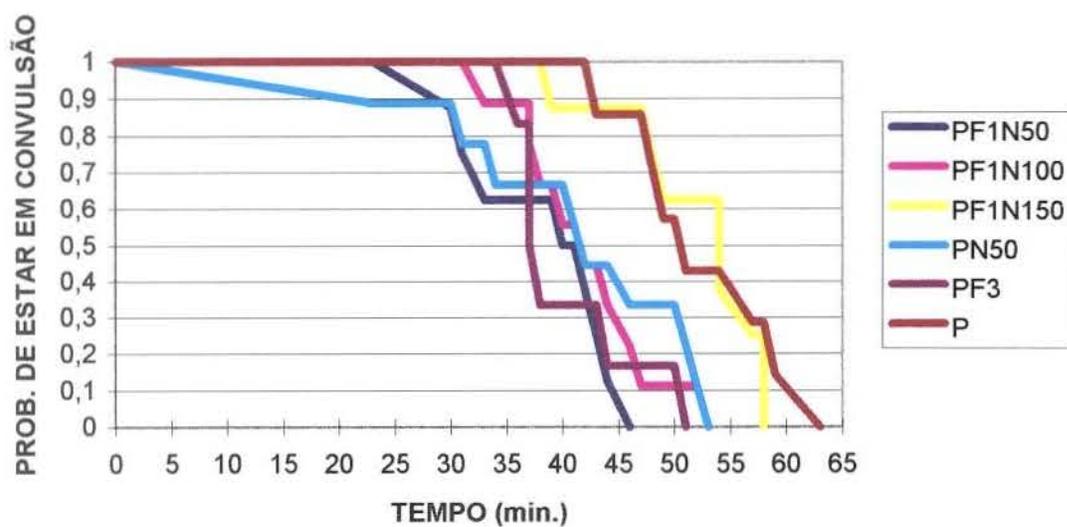


bs) Duração da convulsão (gráfico 14).

Teste	Estatística χ^2	pr > χ^2
Log-Rank	20,46	0,0010

Houve diferença significativa entre os grupos. Pela análise do gráfico 14, observou-se que houve maior duração de convulsão nos grupos PF1N150 e P.

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



8. DISCUSSÃO

No presente trabalho pretendemos estabelecer se a combinação de dois vasoconstritores (noradrenalina e felipressina) associados à prilocaína a 3% e lidocaína a 2% diminuiria a toxicidade dos anestésicos locais.

Os resultados da DL_{50} das soluções contendo lidocaína, quando comparados com os da literatura, mostraram uma grande variação nas estimativas de DL_{50} da lidocaína, via subcutânea, em camundongos (tabela 11).

As explicações para estas diferenças podem estar situadas em diversos pontos divergentes entre os experimentos: concentração do sal anestésico, pH da solução anestésica, animal utilizado, horário das injeções e análise estatística.

Em relação ao sal anestésico, observamos que os estudos foram feitos com diferentes concentrações de lidocaína. Observamos ainda que em alguns deles foi feito o ajuste do pH para propiciar à solução uma concentração hidrogeniônica próxima à dos tecidos do organismo (pH 7,4). Sabe-se que o pH de uma solução anestésica (e o pH do local da injeção) tem grande influência sobre sua ação de bloqueio nervoso, pois o teor do pH interfere no início da ação, na eficácia clínica e na confortabilidade da infiltração de uma solução anestésica (MALAMED, 1993).

Forém, JONG & BONIN (1980) não encontraram diferenças estatísticas significantes nas estimativas de DL_{50} e DC_{50} feitas com soluções de diferentes pHs, de bupivacaína (pH 5,7 e 3,5) e lidocaína (pH 6,2 e 3,5). Os autores atribuíram esse resultado à ampla capacidade tampão reserva do tecido normal.

Foderíamos atribuir essas diferenças, então, ao tipo de animal utilizado nestes experimentos. FRAHN (1958) acredita que se pode obter resultados distintos com diferentes linhagens. HENN (1960) concorda com a afirmação anterior e, em seu estudo, refere-se à utilização de camundongos albinos, com peso entre 18 e 22 g, porém não especifica a linhagem. ÅSTROM et al (1964) utilizaram camundongos albinos, linhagem DDS, com peso entre 17 e 22 g. Já ÅKERMAN (1966) descreve que utilizou camundongos albinos machos com peso em torno de 20 g. DE BIASE (1970) utilizou camundongos albinos, linhagem Swiss, com 22 a 24 g. Percebemos que as informações se mostram incompletas nestes estudos. As informações mais completas foram encontradas nas publicações de TRUANT (1958), JONG & BONIN (1981) e VOLPATO (1995). Os dois primeiros utilizaram camundongos albinos, fêmeas, sendo que o primeiro estudou a linhagem Rockland (18 - 22g) e o segundo a linhagem Charles River (30 - 35g). Já VOLPATO (1995) utilizou camundongos albinos, machos (espécie *Mus - musculus*), linhagem Swiss (17-22 g).

Esses dados mostram uma grande variação de linhagens, e vários autores observaram em seus estudos que realmente existem diferenças entre linhagens de uma mesma espécie. (BRODIE, 1956; SHERMAN, 1963; GREEN, 1968; ROSALEN et al, 1992). Diante disso, é razoável afirmar que as diferenças entre as DL₅₀ da lidocaína sejam devidas a esta variável.

Além do mais, o horário das injeções das soluções também é uma variável importante na análise dos dados. Segundo MOORE (1977), dependendo do horário de injeção, podem ocorrer diferenças na frequência de convulsões. Somente JONG & BONIN (1981) e VOLPATO (1995) relataram o horário das injeções, respectivamente entre 9 e 11 horas da manhã e 8 e 12 horas da manhã. Períodos coincidentes com os utilizados neste experimento.

Outro dado importante para a comparação dos resultados dos experimentos é a análise estatística. Nos trabalhos anteriores a 1958 e mesmo os mais atuais, como o DE BIASE (1970), não são mencionados os métodos estatísticos empregados para a análise dos dados.

Observamos que as estimativas de DL₅₀ até a década de 70 eram calculadas pelo método gráfico de MILLER & TAINTER (1944) para o “probit”, usando-se o teste “t” para a comparação entre grupos.

As comparações entre grupos por meio do teste “t” são feitas duas a duas, sendo a significância calculada para cada uma dessas comparações. Em estudos com mais de dois grupos, onde todos devem ser comparados entre si, este tipo de teste não pode ser aplicado, pois os contrastes não são ortogonais, ou seja, as comparações não são independentes. Com esse teste não é possível calcular o nível de significância conjunta para todas comparações, não sendo, portanto, adequado.

Atualmente usa-se o modelo logístico ou o “probit” para o cálculo da DL₅₀, enquanto que os grupos são comparados por intervalos de confiança. A escolha de um desses modelos (“probit”, logístico, derivação log-log) deve ser feita após aplicação e verificação daquele que permite um melhor ajuste dos dados.

TABELA 11. Estimativas de DL₅₀ da lidocaína, lidocaína com noradrenalina e lidocaína com felipressina (em mg/kg), via subcutânea, em camundongos, publicadas por vários autores.

AUTOR	LIDOCAÍNA		LIDOCAÍNA + NORADRENALINA (NOR)		LIDOCAÍNA + FELIPRESSINA (FEL)	
	DL ₅₀ (mg/kg)	CONC. %	DL ₅₀ (mg/kg)	CONC. NOR	DL ₅₀ (mg/kg)	CONC. FEL UI/ml
Höller et al, 1952	240		200	1:10.000		
Harnisch, 1953	300					
Truant, 1958	360±13	2				
Frahm, 1958	450	1				
Koelzer & Wehr, 1959	248	5				
Henn, 1960	314±21	2,5-3,5				
Henn, 1960	278±7	2,5-3,5				
Aström et al, 1964	340±20	2				
Akerman, 1966	238±11	0,1-2,0			315±15 288±15	0,1 0,5
De Biase, 1970	400	2,0				
Jong & Bonin, 1981	462,7±23,8					
Volpato, 1995	199,2±12,2	2			221,1 ± 12,1	0,03
Este Estudo, 1996	185,5±10,78	2	154,7±10,82	1:50.000	224,5 ± 8,63	0,03

Mesmo observando a ocorrência dessas variáveis (concentração, animal utilizado, sexo, peso, horário de injeção e método de análise estatística), vamos estabelecer um paralelo entre os resultados deste estudo com os demais.

Em nosso experimento observamos que a adição de noradrenalina 1:50.000 ao anestésico local lidocaína a 2% levou à diminuição da DL₅₀ (154,7 mg/kg) em relação a DL₅₀ da lidocaína sem vasoconstritor (185,5 mg/kg), embora essa diminuição não tenha sido estatisticamente significativa, segundo o intervalo de confiança obtido pelo método de FIELLER.

HÖLLER et al (1952) também estudaram a associação de lidocaína com noradrenalina 1:10.000, via subcutânea em camundongos, e observaram uma diminuição da DL₅₀ (200 mg/kg) em comparação com a solução sem vasoconstritor (240 mg/kg).

Observamos que os valores de DL_{50} obtidos por HÖLLER et al (1952), tanto para a solução de lidocaína associada à noradrenalina quanto para a lidocaína sem vasoconstritor, são diferentes dos nossos. Provavelmente essas diferenças possam ser explicadas pela concentração diferente de vasoconstritor utilizada por esses pesquisadores. Os autores não citam ainda a concentração do sal anestésico utilizado nem a linhagem dos camundongos.

Embora existam poucos relatos da toxicidade da noradrenalina com lidocaína, a literatura mostra resultados da associação deste anestésico local com adrenalina, droga do mesmo grupo farmacológico da noradrenalina. A maioria dos autores que estudaram essa associação observou uma diminuição da DL_{50} em comparação à solução sem vasoconstritor (HÖLLER, 1952; KOELZER & WEHR, 1959; ÅSTROM et al, 1964; ÅKERMAN, 1966; VOLPATO, 1995).

Em relação à associação de lidocaína a 2% com felipressina 0,03 UI/ml ($DL_{50} = 224,5$ mg/Kg), observamos que ocorreu uma diminuição de toxicidade evidenciada ao compararmos com a DL_{50} da lidocaína a 2% sem vasoconstritor (185,5 mg/kg). Resultados semelhantes foram obtidos por ÅKERMAN, 1966 e VOLPATO, 1995.

A diminuição da toxicidade observada em nosso estudo parece uma confirmação dos dados obtidos por outros autores (ÅKERMAN, 1966 e VOLPATO, 1995) e deixa claro a proteção que a felipressina exerce em termos de toxicidade, quando associada a anestésicos locais. Entretanto, em nosso experimento essa proteção não se mostrou estatisticamente significativa, provavelmente devido à menor concentração de felipressina (0,03 UI/ml) usada em comparação às concentrações utilizadas por ÅKERMAN (0,1 e 0,5 UI/ml). Já VOLPATO, que usou concentração de felipressina igual à deste estudo, também observou diminuição de toxicidade, sem diferença estatística significativa.

Todas as soluções contendo lidocaína associada aos dois vasoconstritores (noradrenalina e felipressina) apresentaram maior toxicidade em relação à lidocaína sem vasoconstritor. Para os grupos LF_1N_{50} e LF_1N_{150} , o aumento de toxicidade não se mostrou estatisticamente significativo, enquanto para o grupo LF_1N_{100} houve significância estatística. VOLPATO (1995) também obteve resultados semelhantes aos nossos, embora tenha trabalhado com a associação de adrenalina e felipressina aos anestésicos locais (lidocaína a 2% e prilocaína a 3%).

Com relação à dose convulsiva (DC_{50}) dos grupos contendo lidocaína, observamos que as soluções contendo maiores concentrações de vasoconstritores (LF_1N_{50} , LF_1N_{100} e LF_3) foram as que ofereceram maior proteção ao animal, mostrando valores de DC_{50} , em termos absolutos, aumentados (tabela 8). Entretanto, não apresentaram diferença estatística significativa. VOLPATO (1995), usando

adrenalina também observou que, em relação a DC_{50} , as soluções de lidocaína contendo as maiores concentrações de vasoconstritor parecem oferecer maior proteção ao animal.

Em relação ao tempo de latência da PRO, a lidocaína na dose de 100 mg/Kg apresentou diferença estatística significativa entre os grupos LF_3 e L em relação aos demais. A lidocaína sem vasoconstritor mostrou tempo de latência da PRO menor do que quando associada à felipressina. Não observamos diferenças estatísticas significantes entre as soluções contendo lidocaína em relação ao tempo de latência e duração da convulsão.

A associação de felipressina à lidocaína possibilitou uma redução dos sinais de toxicidade. Fato também observado por AKERMAN (1969), que usou felipressina a 0,05 UI/ml e VOLPATO (1995), que a usou em concentrações semelhantes às deste estudo.

Foderíamos lançar mão das observações de GERKE et al (1977b) para, em parte, entender os resultados obtidos em relação aos grupos contendo lidocaína como sal anestésico, no presente trabalho. Eles observaram que não houve alteração estatística significativa na potenciação da ação vasoconstritora da noradrenalina pela lidocaína quando as soluções eram utilizadas em doses volumétricas de até 0,4 ml. Acima desse valor havia uma diminuição da resposta constritora da noradrenalina.

Quanto à dose letal dos vasoconstritores utilizados neste estudo, obtivemos para a noradrenalina valor de $DL_{50} = 8,910$ mg/kg, por via subcutânea. Não encontramos na literatura dados de comparação por esta mesma via. Porém, segundo a SIGMA-ALDRICH Chemical Co., a DL_{50} da noradrenalina por via intraperitoneal é 26,8 mg/kg e por via intravenosa é 1,025 mg/kg. Já, a determinação da DL_{50} da felipressina não foi realizada por nós, pois VOLPATO, em estudo recente, mesmo injetando 1000 UI/kg não observou qualquer efeito tóxico, tanto via subcutânea, quanto via intraperitoneal.

A análise dos resultados com a prilocaína mostra algumas diferenças em relação aos resultados de lidocaína. Os resultados da DL_{50} da prilocaína foram semelhantes aos de outros autores, conforme a tabela 12.

Tabela 12. Estimativas de DL₅₀ da prilocaína, prilocaína com noradrenalina e prilocaína com felipressina (em mg/kg), via subcutânea em camundongos, publicadas por vários autores.

AUTOR	PRILOCAÍNA		PRILOCAÍNA + NORADRENALINA (NOR)		PRILOCAÍNA + FELIPRESSINA (FEL)	
	DL ₅₀ (mg/kg)	CONC. %	DL ₅₀ (mg/kg)	CONC. NOR	DL ₅₀ (mg/kg)	CONC. FEL UI/ml
ÁSTROM et al, 1964	600 ± 50	4				
ÁKERMAN, 1966	637 ± 18	0,1 a 2			770 ± 19 719 ± 12	0,1 0,5
DE BLASE, 1970	520					
VOLPATO, 1995	605,6 ± 37,6	3			678,8 ± 26,7	0,03
ESTE ESTUDO, 1996	602,6 ± 32,24	3	451,9 ± 30,23	1:50.000	581, ± 32,91	0,03

A adição de noradrenalina 1:50.000 à prilocaína 3% (PN₅₀) causou diminuição da DL₅₀, em relação à prilocaína sem vasoconstritor (P), caracterizando aumento de toxicidade, com diferença estatística significativa entre os dois grupos. Na literatura, não existem estudos sobre a toxicidade aguda desse tipo de associação. Porém, vários pesquisadores já observaram que a associação deste mesmo anestésico local com a adrenalina leva a uma diminuição da DL₅₀ (ÁSTROM et al, 1964; ÁKERMAN, 1966 e VOLPATO, 1995).

Com relação à adição de felipressina 0,03 UI/ml à prilocaína 3% observamos também uma diminuição da DL₅₀. Essa diminuição foi bastante discreta em relação à causada pela noradrenalina. Observando o gráfico 4 (intervalos de confiança obtidos pelo método FIELLER para DL₅₀ dos grupos contendo prilocaína), não percebemos diferença estatística significativa entre esses grupos.

Contrariamente, ÁKERMAN(1966) e VOLPATO (1995) observaram aumento da DL₅₀ da prilocaína, quando associada à felipressina. Porém, VOLPATO (1995) também não encontrou diferença estatística entre prilocaína sem vasoconstritor (P) e prilocaína associada à felipressina (PF₃).

As soluções que continham noradrenalina, independente ou não de estarem associadas à felipressina, apresentaram maior toxicidade em valores absolutos de DL₅₀, não havendo diferença estatística significativa entre elas. VOLPATO (1995) também obteve resultados semelhantes aos nossos, embora tenha trabalhado com associação de adrenalina e felipressina à prilocaína.

Quanto à DC₅₀, observamos que somente a solução de prilocaína com felipressina a 0,03 UI/ml (PF₃) foi eficaz em reduzir a toxicidade, quando comparada às soluções que continham noradrenalina como vasoconstritor (em associação ou não à felipressina), porém sem haver diferença estatisticamente significativa entre as soluções PF₃ e P. Já VOLPATO (1995) observou que a adrenalina a 1:100.00 combinada

com felipressina a 0,01 UI/ml foi eficaz em diminuir a DC_{50} tanto da prilocaína como da lidocaína, quando comparada aos mesmos anestésicos sem vasoconstritor associado. Observamos que a noradrenalina apresentou resultados semelhantes aos obtidos por VOLPATO (1995) em relação à lidocaína mas não em relação à prilocaína. Essa diferença permite supor que a noradrenalina não apresenta a mesma competência protetora que a adrenalina em relação à DC_{50} . Vale ressaltar que, em termos absolutos, a felipressina mostrou-se eficaz em aumentar a DC_{50} da prilocaína, resultado também obtido por VOLPATO (1995).

Com relação ao tempo de latência da PRO, observamos que, para uma mesma dose (250 mg/kg), houve um aumento significativo em relação à solução contendo prilocaína 3% com felipressina 0,03 UI/ml (PF₃). Quanto ao parâmetro - latência da convulsão não observamos diferença estatística significante entre os grupos. Porém, após o desenvolvimento da convulsão, os grupos PF_{1N150} e P permaneceram maior tempo em estado convulsivo, apresentando diferença estatística significante.

AKERMAN (1969), usando modelo experimental diferente, observou que a adição de felipressina 0,05 UI/ml à lidocaína (100 mg/kg) e à prilocaína (200 mg/kg), levava a uma redução dos sinais de toxicidade. Resultados coincidentes com os obtidos neste trabalho.

VOLPATO (1995), comparando a toxicidade (DL_{50} , DC_{50} , latência da PRO, latência e duração da convulsão) da lidocaína e prilocaína em camundongos, quando associadas a diferentes concentrações de adrenalina e felipressina, também observou que a associação de lidocaína e felipressina causava um aumento do tempo de latência da PRO. Entretanto, quando utilizou solução de prilocaína, não observou diferença significante quanto à latência da PRO, latência e duração da convulsão. Tais resultados não coincidem com os nossos, já que observamos que a solução de prilocaína com felipressina (PF₃) mostrou-se eficaz em aumentar o tempo de latência da PRO.

Diante disso, podemos sugerir que os resultados obtidos mostram que a felipressina apresentou capacidade em diminuir a toxicidade da lidocaína (DL_{50} e DC_{50}) e prilocaína (DC_{50}) e retardar o aparecimento de alguns sinais tóxicos.

Por outro lado, a noradrenalina apresentou resultado diverso, sugerindo sua ineficácia em relação à diminuição da toxicidade da lidocaína (DL_{50}) e prilocaína (DL_{50} e DC_{50}).

9. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, com o modelo experimental adotado, podemos sugerir que:

- 1) a felipressina (isolada) foi capaz de diminuir a toxicidade dos anestésicos locais estudados;
- 2) a noradrenalina (combinada ou não à felipressina) foi incapaz de reduzir a toxicidade da lidocaína e prilocaína;
- 3) a associação da noradrenalina e felipressina com os anestésicos locais lidocaína e prilocaína foi ineficaz quanto à redução da toxicidade e diminuição dos sinais tóxicos.

Diante disto, concluímos que não se justifica esta associação.

10. ANEXOS

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

Grupo LF₁N₆₀

Dose (mg/kg)	125	135	150	165	170	173	175	200
nº de mortos	1	2	4	6	5	7	9	9

Grupo LF₁N₁₀₀

Dose (mg/kg)	100	125	150	152	154	155	160	175
nº de mortos	0	2	4	4	6	7	7	9

Grupo LF₁N₁₅₀

Dose (mg/kg)	110	130	200	203	205	210	225
nº de mortos	0	2	4	6	7	8	10

Grupo LN₅₀

Dose (mg/kg)	100	125	150	175	200	250	300
nº de mortos	1	3	5	7	7	8	10

Grupo LF₃

Dose (mg/kg)	180	210	220	230	250	350
nº de mortos	1	3	4	7	8	9

Grupo L

Dose (mg/kg)	130	150	185	245	300
nº de mortos	0	3	5	8	10

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

Grupo PF₁N₅₀

Dose (mg/kg)	200	250	275	285	292	300	350	400	500	600
nº de mortos	1	1	2	3	3	5	6	7	7	9

Grupo PF₁N₁₀₀

Dose (mg/kg)	250	260	275	350	500	700	750	800
nº de mortos	0	3	5	6	7	7	8	9

Grupo PF₁N₁₅₀

Dose (mg/kg)	200	350	400	450	600	750
nº de mortos	0	1	4	6	7	9

Grupo PN₅₀

Dose (mg/kg)	200	275	325	400	450	500	600	800
nº de mortos	0	1	4	3	4	6	7	10

Grupo PF₃

Dose (mg/kg)	300	350	500	550	575	600	700	750	800
nº de mortos	1	2	2	2	4	7	8	7	9

Grupo P

Dose (mg/kg)	300	450	535	540	550	650	700	750	850
nº de mortos	1	1	2	4	5	7	7	7	8

Anexo 3. Tabela do número de animais mortos em função das doses utilizadas para o estudo da Dose Letal 50% dos vasoconstritores noradrenalina (via subcutânea).

Noradrenalina

Dose (mg/kg)	2,5	2,8	3	5	7,5	10	11	12,5	15	20	25
nº de mortos	0	1	3	3	3	4	6	7	7	8	10

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

Grupo LF₁N₅₀

Dose (mg/kg)	70	95	97	100	110	125	150
animais em convulsão	2	3	5	5	6	8	9

Grupo LF₁N₁₀₀

Dose (mg/kg)	70	75	77	80	82	90	100	120	150
animais em convulsão	0	2	3	6	5	6	4	8	8

Grupo LF₁N₁₅₀

Dose (mg/kg)	60	65	75	77	80	83	85	100
animais em convulsão	0	1	1	3	5	6	8	8

Grupo LN₅₀

Dose (mg/kg)	40	50	60	70	75	100	150
animais em convulsão	0	2	2	4	7	7	9

Grupo LF₃

Dose (mg/kg)	50	60	75	85	100	150
animais em convulsão	1	3	4	4	7	9

Grupo L

Dose (mg/kg)	35	50	65	100	150
animais em convulsão	1	3	5	8	9

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

Grupo PF₁ N₅₀

Dose (mg/kg)	100	125	140	150	175	200	250
animais em convulsão	1	1	2	4	7	8	9

Grupo PF₁ N₁₀₀

Dose (mg/kg)	100	125	150	175	200	250
animais em convulsão	0	2	2	4	7	9

Grupo PF₁ N₁₅₀

Dose (mg/kg)	125	150	162	175	200	250
animais em convulsão	1	2	4	6	7	9

Grupo FN₅₀

Dose (mg/kg)	125	135	150	175	190	200	250
animais em convulsão	0	2	4	5	6	8	9

Grupo PF₃

Dose (mg/kg)	175	225	250	325	400
animais em convulsão	1	3	6	8	10

Grupo P

Dose (mg/kg)	150	175	190	200	250	400
animais em convulsão	1	3	5	6	7	9

Anexo 6. Tabelas de latência da PRO, latência da convulsão e duração da convulsão (em minutos) para os grupos contendo lidocaína (N corresponde à não ocorrência do efeito estudado).

Grupo LF₁ N₃₀

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	7	6	10	6	10	11	8	8	6	13
Latência convulsão	9	8	N	8	N	15	N	15	9	N
Duração convulsão	64	64	N	62	N	44	N	35	57	N

Grupo LF₁ N₁₀₀

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	6	8	6	10	15	13	5	6	6	6
Latência convulsão	7	15	N	N	N	21	23	10	N	N
Duração convulsão	63	55	N	N	N	39	34	33	N	N

Grupo LF₁ N₁₅₀

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	5	3	5	7	5	5	5	7	6	6
Latência convulsão	7	24	6	26	8	6	9	26	7	7
Duração convulsão	57	36	43	24	51	42	40	31	45	43

Grupo LN₅₀

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	16	8	15	8	4	9	14	8	11	6
Latência convulsão	N	13	20	N	5	16	N	12	14	21
Duração convulsão	N	51	38	N	55	37	N	29	35	21

Grupo LF₃

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	7	6	6	6	5	5	N	7	7	5
Latência convulsão	N	9	9	7	7	9	N	11	N	6
Duração convulsão	N	41	53	42	42	40	N	40	N	46

Grupo L

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	4	3	4	4	4	4	3	4	4	4
Latência convulsão	5	4	7	N	5	5	5	28	N	5
Duração convulsão	49	53	54	N	50	49	51	27	N	48

Anexo 7. Tabelas de latência da PRO, latência da convulsão e duração da convulsão (em minutos) para os grupos contendo prilocaina (N corresponde à não ocorrência do efeito estudado).

Grupo PF₁ N₅₀

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	15	14	11	9	8	9	13	13	13	12
Latência convulsão	N	20	17	12	10	12	14	22	16	14
Duração convulsão	N	31	30	48	50	47	ϕ	33	40	42

OBS.: ϕ = morte do animal.

Grupo PF₁ N₁₀₀

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	10	8	7	14	11	10	14	8	13	8
Latência convulsão	15	12	8	18	24	20	17	10	N	10
Duração convulsão	47	37	40	53	33	44	38	46	N	42

Grupo PF₁ N₁₅₀

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	17	8	6	9	7	7	13	9	6	9
Latência convulsão	N	12	8	12	9	9	15	12	8	11
Duração convulsão	N	54	54	57	58	58	39	49	ϕ	48

OBS.: ϕ = morte do animal.

Grupo PN₅₀

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	16	21	15	13	9	12	10	18	9	11
Latência convulsão	18	N	17	17	12	13	14	20	13	24
Duração convulsão	41	N	42	51	53	52	46	31	34	23

Grupo PF₃

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	13	12	15	12	13	12	10	N	9	9
Latência convulsão	16	15	19	N	15	13	13	N	N	N
Duração convulsão	37	51	44	N	37	36	38	N	N	N

Grupo F

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Latência PRO	10	10	9	8	8	7	6	5	9	11
Latência convulsão	N	16	11	N	9	9	N	19	10	16
Duração convulsão	N	59	63	N	49	48	N	57	51	43

11. SUMMARY

The purpose of this study was to assess the acute toxicity of lidocaine 2% (LIDO) and prilocaine 3% (PRILO) if administered jointly with a mixture of noradrenaline (NOR) and felypressine (FEL).

The acute toxicity was evaluated by determining the LD₅₀ (Lethal Dose for 50% of the population), CD₅₀ (Convulsive Dose for 50% of the population), the latency times of loss of righting reflex (LLR) as well as latency and duration of convulsion.

To this end we used 1840 male (17 to 22g) Swiss mice (*Mus - musculus*), with 10 mice per dose and at least 5 doses per group. The mice were randomly divided in the following groups: G₁ - PF₁ N₅₀ (prilo + fel 0,01 UI/ml + nor 1 : 50.000), G₂ - PF₁ N₁₀₀ (prilo + fel 0,01 UI/ml + nor 1 : 100.000), G₃ - PF₁ N₁₅₀ (prilo + fel 0,01 UI/ml + nor 1 : 150.000), G₄ - LF₁ N₅₀ (lido + fel 0,01 UI/ml + nor 1 : 50.000), G₅ - LF₁ N₁₀₀ (lido + fel 0,01 UI/ml + nor 1 : 100.000), G₆ - LF₁ N₁₅₀ (lido + fel 0,01 UI/ml + nor 1:150.000), G₇ - PN₅₀ (prilo + nor 1 : 50.000), G₈ - LN₅₀ (lido + nor 1 : 50.000), G₉ - PF₃ (prilo + fel 0,03 UI/ML), G₁₀ - LF₃ (lido + fel 0,03 UI/ML), G₁₁ - L (lido), G₁₂ - P (prilo).

Solutions containing only the vasoconstrictors were also administered, together with: G₁₄ - F₁ N₅₀ (fel 0,01 UI/ml + nor 1 : 50.000), G₁₅ - F₁ N₁₀₀ (fel 0,01 UI/ml + nor 1 : 100.000), G₁₆ - F₁ N₁₅₀ (fel 0,01 UI/ml + nor 1 : 150.000) and each one alone G₁₇ - F₃ (fel 0,03 UI/ml), G₁₈ - N₅₀ (nor 1 : 50.000). The animals were observed for 48 hours (LD₅₀) and for 1 hour or until complete recovery (CD₅₀).

LD₅₀ and CD₅₀ were determined according to the GLIM SYSTEM (logistic analysis) and the results compared by their confidence intervals as obtained under the Fieller method. The statistical analysis of the latency times of the LRR and the latency and duration of the convulsion was carried out according to the Kaplan Meier's product limit estimator and the groups compared by Log - Rank's test.

LD₅₀ studies showed that both for the lidocaine as well as for prilocaine the solutions containing noradrenaline were the most toxic (LF₁ N₁₀₀, LN₅₀, LF₁ N₅₀, PF₁ N₅₀, PF₁ N₁₀₀, PN₅₀). In absolute figures, when felypressine was combined with lidocaine (LF₃) it was able to increase the LD₅₀.

As regards CD₅₀ we observed that for the groups containing lidocaine, the solutions with a higher concentration of noradrenaline afforded better protection to the mice. For the groups containing prilocaine, only the solution containing prilocaine in association with felypressine (PF₃) was able to decrease toxicity.

We further observed an increase of the latency times of the LRR by felypressine when associated to lidocaine (LF₃) and also when associated to prilocaine (PF₃). We have observed no difference in the convulsion latency between the groups containing lidocaine and prilocaine. As to the convulsion duration parameter we observed a significant difference only for the PF₁ N₅₀ and P groups. These groups showed a longer convulsion duration.

Based on the results obtained, our conclusion is that as for as toxicity is concerned, within the experimental model studied, there is no advantage to associating two vasoconstrictors such as noradrenaline and felypressine.

Key words: local anesthetics, vasoconstrictor and drug toxicity.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

1. ABRAHAM-INFJN, L., BORGMEIJER-HOELLEN, A., GORTZAK, R.A.T. Changes in blood pressure, heart rate, and electrocardiogram during dental treatment with use of local anesthesia. J. Am. dent. Ass., Chicago, v.116, n.4, p.531-536, Apr. 1988.
2. AELLIG, W. H., et al. Cardiac effects of adrenaline and felypressin as vasoconstrictors of local anesthesia for oral surgery under diazepam sedation. Br. J. Anaesth., London, v.42, p.174-176, Feb. 1970. Apud CASSIDY, J.P., PHERO, J.C., GRAU, W. H. op. cit. Ref.20.
3. ÅKERMAN, B. Effects of felypressin (Octapressin®) on the acute toxicity of local anesthetics. Acta pharmac. tox., Copenhagen, v. 27, p. 318-330, 1969.
4. _____. On the felypressin (Octapressin®) as an adjunct to lidocaine and prilocaine an experimental study in animals. Acta pharmac. tox., Copenhagen, v.24, n.4, p.377-388, 1966.
5. _____, et al. Studies on the absorption, distribution and metabolism of labelled prilocaine and lidocaine in some animal species. Acta pharmac. tox., Copenhagen, v.24, n.4, p.389-403, 1966.
6. ALLEN, G.D. et al. The cardiorespiratory effects of epinephrine in local anesthetics for dentistry. Anesth. Prog., CHICAGO, v.20, p.152-156, 1973.
7. ALMASI, W., FREWIN, D.B. A comparative study on the retention of H³ lignocaine and H³ prilocaine in the presence of various vasoconstrictors. Aust. dent. J., Saint Leonards, v.25, n.6, p.316-318, Dec. 1980.
8. ALTURA, B. M., HERSHEY, S. G., ZWEIFACH, B. W. Effects of a synthetic analogue of vasopressin on vascular smooth muscle. Proc. Soc. exp. Biol. Med., Baltimore, v.119, p.258-261, 1965.
9. ÅSTRÖM, A., PERSSON, N.H. Influence of adrenaline on the action of some local anaesthetic agent tested in rats. Acta pharmac. suec., Stockholm, v.2, n.6, p.397-402, Dec. 1965.

* De acordo com a NBR-6023 da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), de 1989. Abreviatura dos periódicos conforme o "World List of Scientific Periodicals".

10. ÅSTRÖM, A., PERSSON, G. Some pharmacological properties of α - methyl-n-propyl-aminopropionanilide, a new local anesthetic. Br. J. Pharmac. Chemother., London, v.16, n.1, p.32-44, 1961. Apud ÅKERMAN, B. et al. op. cit. Ref. 5.
11. _____, PERSSON, N.H., ÖRTENGREN, B. The effect of adrenaline on the toxicities and absorptions of L67 (Citanest®) and some other local anesthetics studied in mice and rabbits. Acta pharmac. tox., Copenhagen, v.21, n.2, p.161-171, 1964.
12. BARTELSTONE, H. J., NASMYTH, P.A. Vasopressin potentiation of catecholamine actions in dog, rat, cat and rat aortic strip. Am. J. Physiol., Bethesda, v. 208, p. 754-762, 1965.
13. BASTOS, C.P. Anestesia local potencializada: influência do sinergismo entre adrenalina e felipressina sobre a anestesia causada pela prilocaína. Tese (Doutoramento em Ciências, Área de Farmacologia)-Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 1985, 143 p.
14. BERDE, V.B., WEIDMANN, H., CERLETTI, A. Über phenylalanin² - lysin-vasopressin. Helv. physiol. pharmac. Acta, Basel, v.19, p.285-302, 1961.
15. BOAKES, A. J., et al. Adverse reactions to local anaesthetic/vasoconstrictor preparations. Br. dent. J., London, v.133, p.137-140, 1972.
16. BÖRNER, H. Ursache der Steigerung der Adrenalinwirkung auf den Kanichenblutdruck durch Hypophysenextrakte. Arch. exp. Path. Pharmac., Leipzig, v.79, p.218-249, 1915. Apud BARTELSTONE, H. J., NASMYTH, P.A. op. cit. Ref.12.
17. BRAID, D.P., SCOTT, D.B. The systemic absorption of local analgesic drugs. Br. J. Anaesth., London, v.37, p.394-404, 1965.
18. BRODIE, B. B. Pathways of drug metabolism. J. Pharm. Pharmac., London, v.8, p.1, 1956. Apud GREEN C.D. op. cit. Ref.39.
19. CARDWELL, J.E., CAWSON, R.A. A trial of lignocaine with 1:250.000 adrenaline. Br. J. oral Surg., Edinburgh, v.7, p.7-11, 1969.

20. CASSIDY, J.P., PHERO, J.C., GRAU, W.H. Epinephrine: systemic effects and varying concentrations in local anesthesia. Anesth. Prog., Chicago, v.33, n.6, p.289-297, Nov./Dec. 1986.
21. CHERASKIN, E., PRASERTSUNTARASAI, T. Use of epinephrine with local anesthesia in hypertensive patients III. Effect of epinephrine on blood pressure and pulse rate. J. Am. dent. Ass., Chicago, v.57, n.4, p.507-519, Oct. 1958.
22. CLARK, J. H. History of regional anesthesia. In: JASTAK, J. T., YAGLIELA, J.A. eds. Regional anesthesia of the oral cavity. St. Louis, C.V. Mosby, 1981.
23. COLLET, D. Modeling binary data. Londres : Chapman and Hall, 1991. 369p.
24. COLLINS, I.S. Multi-centric clinical trial of a vasoconstrictor - ornithine vasopressin (POR Sandoz). N. Z. med. J., Wellington, v.76, p. 77-81, Aug. 1972.
25. COBERTT, C.E. Farmacodinâmica. 4. ed. São Paulo: Artes Médicas, 1973.
26. CRAWFORD, O. B. Comparative evaluation in peridural anesthesia of lidocaine, mepivacaine and L 67, a new local anesthetic agent. Anesthesiology, Haegerstown, v.25, p.321-329, 1964. Apud ÅKERMAN, B. et al. op. cit. Ref. 5.
27. DEASY, M.J., DISTEFANO, V. Effects of local anesthetics on epinephrine - and norepinephrine - induced contractions of rabbit aortic strips. J. dent. Res., Washington, v.51, n.5, p.1388-1393, Sept./Oct. 1972.
28. DE BIASE, S. Ricerche farmacologiche e tossicologiche sulla associazione citanest - octapressina. Annali Stomat., Roma, v.19, p.791-800, 1970.
29. FRAHM, M. Beiträge zur pharmakologischen auswertung neuer lokalanaestetica. Anaesthesist, Berlin, v. 7, p. 44, 1958, Apud HENN, F. op. cit. Ref.43.
30. FROST, B.R., GERKE, D.C., FREWIN, D.B. The effect of 2-phenylalanine 8-lysine vasopressin (Octapressin®) on blood vessels in the rat tail. Aust. J. exp. Biol. med. Sci., Adelaide, v.54, n.4, p.403-411, 1976.

31. GANGAROSA, L.P., HALIK, F. J. A clinical evaluation of local anaesthetic solutions containing graded epinephrine concentrations. Archs oral Biol., Oxford, v.12, n.5, p.611-621, May. 1967.
32. GERKE, D.C., FREWIN, D.B. The comparative effects of prilocaine, lignocaine and cocaine on the response of the rabbit ear artery to adrenaline and noradrenaline. Aust. dent. J., Saint Leonards, v.27, n.1, p.39-44, Feb. 1982.
33. _____, _____, FROST, B.R. The effect of local anaesthetics on the vasoconstrictor response of the isolated perfused artery to adrenaline and noradrenaline. Eur. J. Pharmac., Amsterdam, v.38, n.2, p.243-252, Aug. 1976a.
34. _____, _____, _____. The synergistic vasoconstrictor effect of Octapressin® and catecholamines on the isolated rabbit ear artery. Aust. J. exp. Biol. med. Sci., Adelaide, v.55, n.6, p.737-740, 1977a.
35. _____, _____, WATERSON J.G. The effects of commercial local anaesthetic solutions on the isolated rabbit ear artery. Aust. dent. J., Saint Leonards, v.22, n.4, p.289-294, Aug. 1977b.
36. _____, et al. The effect of local anaesthetics on the neural uptake of catecholamines in isolated arteries - a histochemical study. Aust. J. exp. Biol. med. Sci., Adelaide, v.54, n.6, p.601-604, Dec. 1976 b.
37. _____, et al. The use of mixtures of octapressin and adrenaline in local anaesthetic solutions to obtain more effective vasoconstriction. Aust. dent. J., Saint Leonards, v.23, n.3, p.240-243, June. 1978.
38. GOODMAN, L.S., GILMAN, A.G. Goodman e Gilman as bases farmacológicas da terapêutica: 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 1232p.
39. GREEN, C.D. Strain sensitivity of rats to nitrous oxide. Anesth. Analg., New York, v.47, n.5, p.509-514, Sept./Oct. 1968.
40. GREEN, H.D., BLUMBERG, J.B. The use of synthetic analogue of posthypophysial vasopressin (PVL- 2) for local hemostasis. Surgery, Saint Louis, v.58, n.3, p.524-529, 1965.

41. GUHL, V. Die antidiuretische und pressorische wirksamkeit von arginin⁸- vasopressin, lysin⁸- vasopressin und phenylalanin²- lysin⁸- vasopressin beim menshen. Schweiz. med. Wschr., Basel, v.91, p.798, 1961. Apud LIGHT, G.A., RATTENBORG, C., HOLADAY, D.A. op. cit. Ref .62.
42. HARNISCH, H. Das lokalanästhetikum hostacain in experiment und Klinik. Dt. Zahnärztl. Z., München, v.8, p.1224-1233, 1953.
43. HENN, F. Determination of the toxicological and pharmacological properties of carbocaine, lidocaine and procaine by means of simultaneous experiments. Acta anaesth. scand., Aarhus, v.4, p.125-154, 1960.
44. HIROTA, Y. et al. An echocardiographic study of patients with cardiovascular disease during dental treatment using local anesthesia. J. oral maxillofac. Surg. , Duluth, v.44, n.2, p.116-121, Feb. 1986.
45. HÖLLER, W. Die toxität einiger lokalanästhetika und ihre beeinflussung durch vasokonstringentien. Dt. Zahnärztl. Z. , München, v.7, p.1198-1204, 1952.
46. HUOBER, G. Sugli effetti cardio-circolatori delle soluzioni anestefiche con vasocostrittore nell'anestesia per chirurgia odonto - stomatologica - contributo sperimentale. Riv. ital. Stomat., Parmz, v.24, n.12, p.1345-1356, 1969.
47. IVERSEN, L.L. The uptake and storage of noradrenaline in sympathetic nerves. Londres: Cambridge University, 1967. Apud GERKE, D.C., FREWIN, D.B., FROST, B.R. op. cit. Ref. 33.
48. JASTAK, J. T. , YAGIELA, J. A. Vasoconstrictors and local anesthesia a review and rationale for use. J. Am. dent. Ass. , Chicago, v.107, n.4, p.623-630, Oct. 1983.
49. _____, _____. Regional anesthesia of the oral cavity. St. Louis: C. V. Mosby, 1981. p.56.
50. JONG, R.H., Physcology and pharmacology of local anesthesia. Springfield: C. C. Thomas, 1974. 267p.
51. _____, BONIN, J.D. Mixtures of local anesthetics are no more toxic than the parent drugs. Anesthesiology, Lancaster, v.54, n.3, p.177-181, Mar. 1981.

52. JONG, R.H., BONIN, J.D. Toxicity of local anesthetics mixtures. Toxic. appl. Pharmac., San Diego, v.54, n.3, p.501-507, 1980.
53. KATZ, R.L. Epinephrine and PVL-2: cardiac rhythm and local vasoconstrictor effects. Anesthesiology, Lancaster, v.26, n.5, p.619-623, Sept./Oct. 1965.
54. KEENAGHAN, J.B., BOYES, R.N. The tissue distribution, metabolism and excretion of lidocaine in rats, guinea pigs and man. J. Pharmac. exp. Ther., Baltimore, v.180, n.2, p.454-463, Feb. 1972.
55. KEESLING, G.R., HINDS, E.C. Optimal concentration of epinephrine in lidocaine solutions. J. Am. dent. Ass., Chicago, v.66, n.3, p.337-340, Mar. 1963.
56. KEPINOW, D. Über den synergismus von hypophysisextrakt und adrenalin. Arch. exp. Path. Pharmac. Leipzig, v.67, p.247-274, 1912. Apud BARTELSTONE, H. J., NASMYTH, P. A. op. cit. Ref .12.
57. KLINGENSTRÖM, P., WESTERMARK, L. Local effects of adrenaline and phenylalanyl-lysyl-vasopressin in local anaesthesia. Acta anaesth. scand., Aarhus, v.7, p.131-137, 1963.
58. _____, NYLÉN, B., WESTERMARK, L.A Clinical comparison between adrenaline and octapressin as vasoconstrictor in local anesthesia. Acta anaesth. scand., Aarhus, v.11, p. 34-42, 1967.
59. KNOLL-KÖHLER, E., FÖRTSCH, G. Pulpal anesthesia dependent on epinephrine dose in 2% lidocaine. Oral Surg., Saint Louis, v.73, n.5, p.537-540, May, 1992.
60. KOELZER, P.P., WEHR, K.H. Beziehungen zwischen chemischer konstitution und pharmakologischer wirkung bei mehreren Klassen neuer lokalanästhetica. Arzneimittel- Forsch, Aulendorf, v.9, p.683, 1959. Apud HENN, F. op. cit. Ref.43.
61. LAWLEES, J.F. Statistical models and methods for lifetime data. New York: John Wiley & Sons, 1982. 579p.
62. LIGHT, G.A., RATTEMBORG, C., HOLADAY, D.A. A new vasoconstrictor - preliminary studies of phelypressin. Anesth. Analg., New York, v.44, n.3, p.280-287, May/ June, 1965.

63. LILJENTHAL, B. Cardiovascular responses to intraosseous injections of prilocaine containing vasoconstrictors. Oral Surg., Saint Louis, v.42, n.5, p.552-558, Nov. 1976.
64. _____, REYNOLDS, A.K. Cardiovascular responses to intraosseous injections containing catecholamines. Oral Surg., Saint Louis, v.40, n.5, p.574-583, Nov. 1975.
65. LINDORF, H.H. Investigation of the vascular effect of newer local anesthetic and vasoconstrictors. Oral Surg., Saint Louis, v.48, n.4, p.292-297, Oct. 1979.
66. LONGO, L.D. et al. Hemodynamic and renal effects of octapressin. Proc. Soc. exp. Biol. Med., Baltimore, v.115, n.3, p.766-770, Mar. 1964.
67. McCULLAGH, P., NELDER, J.A. Generalized linear models. 2.ed. Londres: Chapman and Hall, 1989. 511p.
68. MALAMED, S.F. Hand book of local anesthesia. 3. ed. St. Louis: Mosby Year Book, 1990.
69. _____. Manual de anestesia local. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 225p.
70. MAXWELL, G.M. The cardiovascular effects of octapressin. Archs int. Pharmacodyn. Thér., Bruxelles, v.158, p.17-23, 1965.
71. MEYER, F.-U. Hemodynamic changes of local dental anesthesia in normotensive and hypertensive subjects. Int. J. clin. Pharmac. Ther. toxic., Munchen, v.24, n.9, p.477-481, 1986.
72. MEYER, R., ALLEN, G.D. Blood volume studies in oral surgery: I. Operative and postoperative blood in relation to vasoconstrictors. J. oral Surg., Chicago, v.26, n.11, p.721-726, Nov. 1968.
73. MILLER, L.C., TAINTER, M.L. Estimation of the ED₅₀ and its error by means of a logarithmic-probit graph paper. Proc. Soc. exp. Biol. Med., Baltimore, v.57, p.261-264, 1944. Apud AKERMAN, B. op. cit. Ref. 5.
74. MOORE, P.A. Circadian variations in the convulsant response and pharmacokinetics of lidocaine. Thesis-University of Pittsburg, 1977. Apud JONG, R. H., BONIN, J.D. op cit. Ref. 52.

75. MORGAN, B.J.T. Analysis of quantal response data. Londres: Chapman and Hall, 1992. 511p.
76. NEWCONB, G.M. Contraindications to the use of catecholamine vasoconstrictors in dental local analgesics. N. Z.dent. J., Auckland, v.69, p.25-30, 1973.
77. _____, WAITE, I. M. The effectiveness of two local analgesic preparations in reducing haemorrhage during periodontal surgery. J. Dent., Guildford, v.1, n.1, p.37-42, Jan. 1972.
78. OLGART. L., GAZELIUS, B. Effects of adrenaline and felypressin (octapressin) on blood flow and sensory nerve activity in the tooth. Acta Odont. scand. , Oslo, v.35, n.2, p.69-75, Mar./Apr.1977.
79. PAYNE, C.D. The GLIM system release 3.77 manual. Oxford: Numerical Algorithms Group, 1986. 3v.
80. PERSSON, G. Ornithine^R- vasopressin (POR - 8) as a vasoconstrictor in anesthetics used for ordinary dental treatment. Scand J. dent. Res., Copenhagen, v.79, p.441-448, 1971.
81. PIFERNO, S., KAIM, J. Epinephrine in local anesthesia - effect on the blood pressure of normotensive patients. N. Y. St. dent. J. , New York, v.47, p.392-394, Aug./Sept. 1981.
82. RANALI, J. Avaliação clínica da bupivacaína a 0,25%, combinada com a associação de adrenalina e felipressina e comparada à bupivacaína a 0,5% com adrenalina, em cirurgias de terceiros molares inferiores inclusos. Tese (Livre-Docência em Ciências, Área de Farmacologia)-Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 1990. 98p.
83. _____ et al. Avaliação dos efeitos da associação de adrenalina e felipressina à bupivacaína sobre a pressão arterial de cães. Folha med., Rio de Janeiro, v.105, n.1, p.7-11, 1992.
84. REEVE, L.W. - Modern pharmacodynamic concepts of local anesthesia. Dent. Clin. N. Am., Philadelphia, v.14, n.4, p.783-804, Oct. 1970.
85. RIBOT, S. et al. Cardiovascular effects of phenylalanyl - 2 - lysyl - 8 vasopressin (PLV - 2). Am. J. med. Sci., Philadelphia, v.246, p.479-484, 1963.

86. ROBERTS, D.H., SOWRAY, J.H. Analgésia local em odontologia. 3. ed. São Paulo: Ed. Santos, 1995. cap.4. p.19-36.
87. _____, _____. Local analgesia in dentistry. 3. ed. Bristol: IOP Publishing Limited, 1987. p.34.
88. ROSALEN, F.L. et al. Toxicidade aguda oral do NaF e Na₂PO₃F em ratos - valor da DL₅₀. Anais Soc. bras. Pesqs. odont., São Paulo, v. 8, p. 60, 1992.
89. SHERMAN, H. Comparative profiles of various strains of rats used in long - term feeding studies. Lab. Anim. Care, Cordova, v.13, n.6, p.793-807, 1963.
90. SIEGEL, R. J., VISTNES, L.M. Epinephrine requirements for effective hemostasis in local anesthetics. Surg. Forum, Philadelphia, v.23, p.514-516, 1972.
91. STAVRAKY, G.W., OLIVER, R. J. Influence of the posterior pituitary on the pressor action of epinephrine. Fedn. Proc. Fedn. Am. Socs. exp. Biol., Bethesda, v.11, p.392-393, Mar. 1952.
92. SVEEN, K. Effect of the addition of a vasoconstrictor to local anesthetic solution on operative and postoperative bleeding, analgesia and wound healing. Int. J. oral Surg., Copenhagen, v.8, n.4, p.301-306, Aug. 1979. Apud CASSIDY, J. P., PHERO, J. C., GRAU, W. H. op. cit. Ref.20.
93. TAYLOR, S.E., DORRIS, R.L. Modification of local anesthetic toxicity by vasoconstrictors. Anesth. Prog., Chicago, v.36, n.3, p.79-87, May/June, 1989.
94. TRUANT, A. P. Studies on the pharmacology of meprylcaine (oracaine), a local anesthetic. Archs int. Pharmacodyn. Thér, Bruxelles, v.115, n.4, p.483-487, 1958.
95. VOLPATO, M.C. Estudo da toxicidade Aguda (DL50 e DC50) da lidocaina e prilocaína, quando combinadas com uma associação de dois vasoconstritores (adrenalina e felipressina). Tese (Doutoramento em Ciências, Área de Farmacologia) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 1995. 75p.

96. WATERSON, J.G. Interactions of adrenaline and POR - 8 in vascular smooth muscle. J. dent. Res., Washington, v.53, n.3, p.705, May/June, 1974. [Abstract,1].
97. _____. Potentiation of vascular responses to catecholamines by POR - 8. J. dent. Res., Washington, v.54, p.B63-B67, 1975. [Special Issue B].
98. _____. Vasoconstriction by ornithine vasopressin in the rabbit ear. J. dent. Res., Washington, v.49, n.3, p.659, May/June, 1970.
99. _____, HUME, W.R. Interactions of norepinephrine and POR - 8. J.dent. Res., Washington, v.52, n.3, p.575-576, May/June, 1973.
100. YAGIELA, J.A. Intravascular lidocaine toxicity: influence of epinephrine and route of administration. Anesth. Prog., Chicago, v.32, n.2, p.57-61, Mar./Apr. 1985.
101. _____, MADSEN, W.C. Mechanism of enhancement of lidocaine toxicity epinephrine. J.dent. Res., Washington, v.61, p.275, Mar. 1982. [Abstract, 873].
102. ZANINI, A.C., OGA, S. Farmacologia aplicada. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1989. cap. 8. p.87-96.