

Maria de Lourdes Garboggini da Gama



1150015900



FOP

T/UNICAMP G14i

*A influencia do pH das soluções de Lidocaina (Xylocaina^(R)) na
Anestesia Local de Regiões com Inflamação"*

*Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Piracicaba, da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do Grau de Doutor
em Ciências (Farmacologia e Anestesiologia).*

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

BIBLIOTECA

T 2 6 2

Piracicaba - S. P.

1976

Carinhosamente dedico este
trabalho a :

meu pai,

meu esposo,

meus filhos.

Ao PROF. DR. ANTONIO CARLOS NEDER, orientador deste trabalho, a cuja amizade, compreensão e dedicação devo a minha carreira universitária, os meus mais sinceros agradecimentos.

A G R A D E C I M E N T O S

Ao Prof. Dr. Zeferino Vaz, Magnífico Reitor da Universidade Estadual de Campinas, pelo apoio irrestrito que vem dando ao ensino e à pesquisa em nosso meio universitário.

Ao Prof. Dr. Plínio Alves de Moraes, Coordenador Geral Adjunto da Universidade Estadual de Campinas, por haver proporcionado, quando Diretor, o nosso ingresso no Corpo Docente desta Faculdade.

Ao Prof. Dr. José Merzel, Digníssimo Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela ênfase que vem dando às atividades didáticas e de pesquisa em nossa Faculdade.

Ao Prof. Dr. Armando Octávio Ramos, Digníssimo Diretor da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu e Vice-Reitor da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", pelo apoio e estímulo que nos deu na execução deste trabalho.

Ao Dr. Moustafa Mohamed El-Guindy, pela colaboração e interesse demonstrados.

À Prof^a. Dr^a. Sônia Vieira, pela meticulosa atenção dada à execução da análise estatística.

Ao colega Dr. Amado Leonísio de Azevedo, que muito nos auxiliou na elaboração deste trabalho.

Aos colegas da Área de Farmacologia e Anestesiologia da nossa Faculdade, pela compreensão e apoio.

Aos colegas da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, pela obsequiosa e eficiente acolhida.

À Srt^a. Sônia Maria Aparecida Simionato Victória, pela dedicada colaboração na parte datilográfica.

À bibliotecária Ivany do Carmo Guidolin Gerola, pelas sugestões na bibliografia apresentada.

À Astra Química do Brasil Ltda., na pessoa do Dr. Homero da Silva, seu Diretor de Mercado, pela cessão da lidocaína utilizada.

Ao Prof. Ulysses de Oliveira Martins, ao Sr. Mário Herling de Oliveira e ao jovem Antonio Carlos Benedito, pela eficiente colaboração.

Ao Sr. Sebastião Rodrigues de Barros, pelos serviços de impressão deste trabalho.

C O N T E Ú D O

INTRODUÇÃO	1
PROPOSIÇÃO	5
MATERIAL E MÉTODOS	6
RESULTADOS	12
DISCUSSÃO	29
CONCLUSÕES	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

I N T R O D U Ç Ã O

Os anestésicos locais são, em sua maioria, ésteres amino terciários de ácidos aromáticos, utilizados geralmente sob a forma de sais, principalmente cloridratos. Enquanto os anestésicos locais são bases fracas, suas soluções sob a forma de sais são bastante ácidas, isto para aumentar a estabilidade dos mesmos, assim como de qualquer substância vasoconstritora que os acompanhe (GOODMAN & GILMAN, 1975).

Todos os anestésicos locais usados na prática contém 1 átomo de N terciário ou secundário e, portanto, podem existir tanto como amina terciária ou secundária não carregada eletricamente, ou então, sob a forma substituída de um cation amônio carregado positivamente, dependendo da constante de dissociação (pKa) do composto e do pH da solução. Parece ser imprescindível a neutralização do sal ácido e a liberação da base livre, para que ocorra a anestesia local.

Vários trabalhos, feitos com nervos periféricos isolados, demonstraram que os anestésicos locais foram mais eficazes quando em soluções alcalinas. Como nestas soluções alcalinas o grau de ionização é diminuto, SHANES (1958) sugeriu serem as formas não ionizadas responsáveis pela atividade anestésica.

COVINO (1972) focaliza o assunto, dizendo que esses trabalhos provavelmente não levaram em conta que dois fatores são envolvidos na ação anestésica destes compostos : difusão através da bainha do nervo ou epineuro, e ligação ao receptor da membrana celular. O citado autor baseou-se nas pesquisas de RITCHIE, RITCHIE e GREENGARD (1965). Estes últimos auto

res, para avaliar a diferença entre a difusão através da bainha do nervo e a ligação aos sítios receptores, fizeram uma série de investigações com preparações de nervos isolados com e pineuro intacto ou não. Quando esses nervos isolados possuíam o epineuro intacto, esses autores verificaram que as soluções alcalinas de lidocaína e dibucaína, que continham relativamente maiores quantidades de base não ionizada, eram mais ativas na supressão da atividade elétrica destas preparações. Tais observações confirmaram aquelas relatadas anteriormente por outros observadores, TREVAN & BOOCK (1927), EHRENBURG (1948), SKOU (1954), RUD (1961). É interessante notar, entretanto, que quando o experimento foi repetido com preparações de nervo isolado sem epineuro, os resultados foram diferentes. Sob estas condições experimentais, uma solução anestésica menos alcalina, que favorecia a formação de uma quantidade relativamente maior de cations, acarretou aumento da atividade anestésica local.

Com base nestas observações, ainda RITCHIE, RITCHIE e GREENGARD (1965) postularam que tanto a base não carregada eletricamente, como a forma catiônica dos anestésicos locais são envolvidas em etapas diferentes no processo de bloqueio da condução nervosa. A base não ionizada é importante para haver a penetração no epineuro, após o que há a ligação da forma catiônica com os sítios receptores, o que, em última análise, causaria depressão dos eventos eletrofisiológicos observados nos nervos periféricos.

RITCHIE & RITCHIE (1968) sugeriram que a porção aromática lipofílica desses agentes é a responsável por suas propriedades anestésicas, e que caberia à porção catiônica da molécula a intensificação dessa atividade.

Ainda na tentativa de determinar o modo de atuação dos anestésicos locais tipo aminas terciárias, NARAHASHI e cols., em 1970, fizeram experiências com dois derivados da lidocaína, verificando a potência bloqueadora desses compostos, quando eram aplicados, em diferentes pH, tanto externa como internamente na membrana de axônio de lula. Concluíram que esses compostos penetram na membrana do nervo na forma não ionizada e bloqueiam o potencial de ação no interior da membrana na forma ionizada.

Nesse mesmo ano, FRAZIER e cols., repetiram essas experiências com análogos quaternários de anestésicos locais, verificando que o bloqueio do potencial de ação no axônio de lula era muito mais eficaz quando aplicados no interior, que no exterior do nervo. Muito interessante foi a observação de que esse bloqueio era independente das variações do pH, quer fossem as soluções aplicadas interna como externamente. Com base nessas observações, os autores concluíram que os anestésicos locais exercem a sua ação bloqueadora no interior da membrana do nervo, quando estão na forma ionizada; porém, quando aplicados externamente, devem atravessar a membrana na forma não ionizada para que exerçam esta ação.

É fato bem conhecido que os anestésicos locais não agem satisfatoriamente em zona inflamada, constituindo isto, aliás, um dos percalços que ocorrem na prática profissional, por acarretar, não raro, problemas para os profissionais no campo da odontologia e da cirurgia em geral.

JONG & WAGMAN, em 1963, afirmam que nas áreas inflamadas, onde o pH está abaixo do normal, os anestésicos lo

cais têm menor atividade, pois estariam muito ionizados, oferecendo pequena quantidade de base livre não ionizada e, portanto, sua atividade anestésica diminuída, compreendendo-se dessa forma que a alcalinização da solução de procaína, até pH 7, torná-la-ia mais eficaz. Porém, como a solução alcalinizada de procaína é instável, torna-se impraticável seu uso na prática médico-odontológica.

Aliás, é interessante notar que, na maior parte da bibliografia que se consultou, não houve focalização objetiva sobre o importante problema do efeito do anestésico local em áreas inflamadas. Assim, os trabalhos de STRAUB (1956), CAMP BELL & ADRIANI (1958), NATHAN & SEARS (1961), SKOU (1961), MET CALFE & BURGEM (1968), KOMISSAROV e cols. (1970), REEVE (1970), LOKHANDWALA e cols. (1971), ADMAS e cols. (1971), BELYAEV (1974), CAMU (1974), CATCHLOVE (1974), DERASARI & PATEL (1974), FLEISCH & TITUS (1974), GUERRERO e cols. (1974), KEMP & BERKE (1974), POGATSA e cols. (1974), COHEN e cols. (1974), ENGLSEN & GREVSTEN (1974), EHREMPREIS & ROSEN (1974), LUND e cols. (1974), RABINOVITCH & DeSTEFANO (1975), que abordam diferentes aspectos da anestesia local, não apresentam dados decisivos que sirvam para estabelecer correlações entre a efetiva potência dos anestésicos locais empregados em áreas inflamadas, e o seu pH.

Com o intuito de contribuir para o estudo dos anestésicos locais em áreas inflamadas, planejou-se este trabalho.

Foram utilizados cobaias com abscessos no dorso, para possibilitar o teste de soluções anestésicas de xilocaína^(R), alcalinizada ou não, nas referidas áreas com inflamação.

P R O P O S I Ç Ã O

Propomo-nos a :

1. Avaliar a eficiência dos métodos de observação direta e do actógrafo com registro quimográfico, na pesquisa da potência do anestésico local lidocaína, quando aplicado em regiões inflamadas de cobaio.

2. Pesquisar a estabilidade da lidocaína em solução com pH 7,4, durante o período da experiência, e testar a eficiência de sua atividade sobre áreas inflamadas de cobaio em comparação com a eficiência da solução com pH 4,7, por intermédio dos métodos acima citados.

MATERIAL E MÉTODOS

1 - ANIMAIS UTILIZADOS

Cobaios, de ambos os sexos, num total de 106, pesos variando entre 0,5 a 1 kg, fornecidos pelo Biotério Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas.

Cada animal era utilizado apenas uma vez no decorrer de todo o experimento.

2 - PREPARAÇÃO DOS ANIMAIS

2.1 - Formação do abscesso

Os abscessos eram provocados no dorso de cobaios pela inoculação de material de placa dentária de procedêr humana, colhido nas Clínicas da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, segundo as recomendações de GIBBONS (1964), e aí diluído a 1 por 100 em solução fisiológica.

Para se proceder à depilação da área dorsal, os cobaios eram anestesiados com éter etílico, por inalação. Na região era injetada a solução contendo material de placa dentária, visando à obtenção de abscesso. As inoculações eram feitas, injetando-se intradermicamente a quantidade padrão de 0,1 ml da solução, esperando-se 6 dias para a formação do abscesso e realização das experiências.

3 - APLICAÇÃO DE ESTÍMULOS DOLOROSOS

3.1 - Aplicação de estímulos elétricos

Os testes de sensibilidade eram realizados com o auxílio de estímulos elétricos, provenientes de um estimulador "Deltronix", de corrente alternada, que funcionava com voltagens de 0 a 300 volts, com mostrador marcado de 6 em 6 volts.

3.2 - Incisão cirúrgica dos abscessos

Dez minutos depois de praticada a anestesia das áreas de abscesso, procedia-se à incisão dos mesmos, verifican-do-se por observação direta a resposta do animal.

4 - OBSERVAÇÃO DO LIMIAR DE SENSIBILIDADE

4.1 - Teste sob observação direta

As áreas de abscesso eram anestesiadas com 1 ml da solução anestésica indicada. Depois de 10 minutos, seguravam-se os eletrodos sobre o abscesso e aplicavam-se os estímulos elétricos, marcando-se a voltagem em que o animal acusava resposta.

4.2 - Teste com registro em quimógrafo

Após anestesia das áreas de abscesso, esperava-se 10 minutos para se realizar a avaliação da atividade em relação aos estímulos elétricos. Os eletrodos do estimulador eram

fixados sobre o abscesso com esparadrapo, sem possibilidade de se desprenderem durante a experiência. A seguir, os animais eram colocados na gaiola do actógrafo. Após acertadas as posições das penas inscritoras e da linha de base, eram aplicados estímulos elétricos crescentes de 12 em 12 volts, a partir de 0 até aproximadamente 96 volts. O estímulo, ao atingir certa intensidade, provocava resposta do animal, que se movimentava, registrando-se, então, no quimógrafo com papel esfumado, nítido e brusco aumento da amplitude do registro.

Os intervalos entre um estímulo elétrico e outro eram variados, aguardando-se o tempo necessário para a normalização dos movimentos dos cobaios, porém nunca ultrapassando 90 segundos.

5 - MÉTODOS ESTATÍSTICOS

As voltagens relativas ao limiar de sensibilidade, obtidas por observação direta, foram submetidas à análise de variância, com um critério de classificação. Foi usado o teste de Tukey para comparação das médias, duas a duas. As voltagens relativas ao limiar de sensibilidade, obtidas por quimógrafo, foram submetidas ao teste t de Student.

A durabilidade da potência da lidocaína foi estudada através de uma análise de regressão, usando o tempo como variável independente.

Para comparar proporções de animais com sensibilidade, nos dois pH utilizados, frente à incisão dos abscessos, utilizou-se o teste exato de Fisher.

6 - DROGAS UTILIZADAS

- 6.1 - Fosfato de Sódio Monobásico - P.A. (Laborat. QEEL, sol. 1 M.).
- 6.2 - Fosfato de Sódio Dibásico - P.A. (Lab. REAGEN - sol. 1 M.).
- 6.3 - Bicarbonato de Sódio (Lab. REAGEN - sol. 1 M.).
- 6.4 - Éter Etílico Comercial (Éter Sulfúrico) (Lab. RHO DIA).
- 6.5 - Lidocaína (Xylocaína^(R)) - 2% com norepinefrina 1:50.000 (Lab. ASTRA QUÍMICA).

7 - SISTEMATIZAÇÃO DA PESQUISA

Para a avaliação do limiar de sensibilidade, os cobaios portadores de abscessos foram divididos em dois grupos, de acordo com o método adotado para observação da resposta do animal aos estímulos dolorosos, sendo ainda constituído um terceiro grupo, com a finalidade de testar a estabilidade da solução de lidocaína com pH 7,4.

O volume de líquido injetado nos cobaios era sempre de 1 ml, quer se tratasse de solução de lidocaína, quer de solução tampão, nos diferentes pH. Aplicada a injeção, esperava-se 10 minutos para a aplicação dos estímulos dolorosos.

7.1 - Grupo sob observação direta

Em 66 cobaios verificaram-se diretamente as respos

tas aos estímulos elétricos ou à incisão cirúrgica.

7.1.1 - Sub-grupo submetido aos estímulos elétricos

Dos 42 cobaios que constituíam esse sub-grupo, 12 receberam injeção, na região do abscesso, de solução tampão pH 4,7 e 7,4; 24 receberam injeção de lidocaína pH 4,7 e 7,4 e os 6 restantes não receberam injeções, servindo como controle.

A solução de lidocaína com pH 7,4 foi alcalinizada com Na HCO_3 e tamponada com fosfato pH 7,4, preparada imediatamente antes do uso.

7.1.2 - Sub-grupo submetido à incisão cirúrgica

Praticou-se a incisão cirúrgica nos abscessos de 24 animais que receberam previamente a lidocaína em solução com pH 4,7 e 7,4, sendo a última solução preparada imediatamente antes do uso.

7.2 - Grupo submetido a registro quimográfico

Este grupo foi constituído de 20 cobaios, que recebiam solução de lidocaína com pH 4,7 e 7,4, também preparada imediatamente antes do uso.

7.3 - Grupo dedicado ao teste da estabilidade da solução de lidocaína com pH 7,4

Neste grupo foram utilizados 20 cobaios, cujas áreas de abscesso eram anestesiadas com solução de lidocaína al

calinizada e tamponada com pH 7,4, previamente preparada e conservada em frasco escuro, em refrigerador. Diariamente eram realizados testes em 1 cobaio, para verificação da estabilidade da referida solução. Nas áreas de abscesso eram aplicados estímulos elétricos, verificando-se a resposta do animal por observação direta. Esta observação foi feita durante 20 dias.

R E S U L T A D O S

1 - AVALIAÇÃO DO LIMIAR DE SENSIBILIDADE POR OBSERVAÇÃO DIRETA

Nestas experiências, observou-se que não foram eficazes as infiltrações realizadas somente com solução tampão, cujo limiar de sensibilidade foi mais baixo que o do grupo controle, enquanto que as injeções de anestésico em solução com pH 7,4 foram mais eficazes que as com pH 4,7. Realmente, no primeiro, o limiar de resposta apresentou média de 14 volts, e com o uso do anestésico local em estudo, os limiares foram respectivamente 66,5 e 78,0 volts, para os pH 4,7 e 7,4 respectivamente.

A Tabela I mostra os resultados obtidos e a Tabela II a análise de variância correspondente.

TABELA I

Limiar de sensibilidade (expresso em volts), avaliado por observação direta, de cobaias que não receberam tratamento (controle), ou tratados com 1 ml de solução tampão com pH 4,7 ou 7,4, ou com solução de lidocaína com pH 4,7 ou 7,4.

CONTROLE	SOLUÇÃO TAMPÃO		SOLUÇÃO ANESTÉSICA	
	4,7	7,4	4,7	7,4
18	12	12	66	120
12	12	12	78	78
24	18	12	90	48
18	12	18	72	60
24	12	12	78	90
18	18	12	48	78
			72	90
			66	102
			66	90
			66	96
			48	210
			48	114
$\bar{x}_1 = 19,0$	$\bar{x}_2 = 14,0$	$\bar{x}_3 = 13,0$	$\bar{x}_4 = 66,5$	$\bar{x}_5 = 98,0$

TABELA II

Análise de variância relativa aos dados da Tabela I.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
TRATAMENTOS	4	52.135,29	13.033,82	23,73**
RESÍDUO	37	20.325,00	549,32	
TOTAL	41	72.460,29		

Os dois asteriscos indicam significância ao nível de 1%.

O valor de F, que consta na Tabela II, mostra que existe pelo menos um contraste de médias diferente de zero ao nível de significância de 1%.

Com a finalidade de detectar tais contrastes, foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

As diferenças mínimas significantes para a aplicação deste teste são : 38,7 para a comparação de médias com 6 réplicas; 27,3 para a comparação de médias de 12 réplicas e 33,5 para a comparação de médias com número diferente de réplicas.

O teste de Tukey mostra que o valor médio de limiar de sensibilidade, obtido em animais controle, não difere dos valores médios de limiar de sensibilidade, obtidos em animais que receberam a solução tampão com pH 4,7 e 7,4. Por outro lado, as médias de limiar de sensibilidade, relativas às

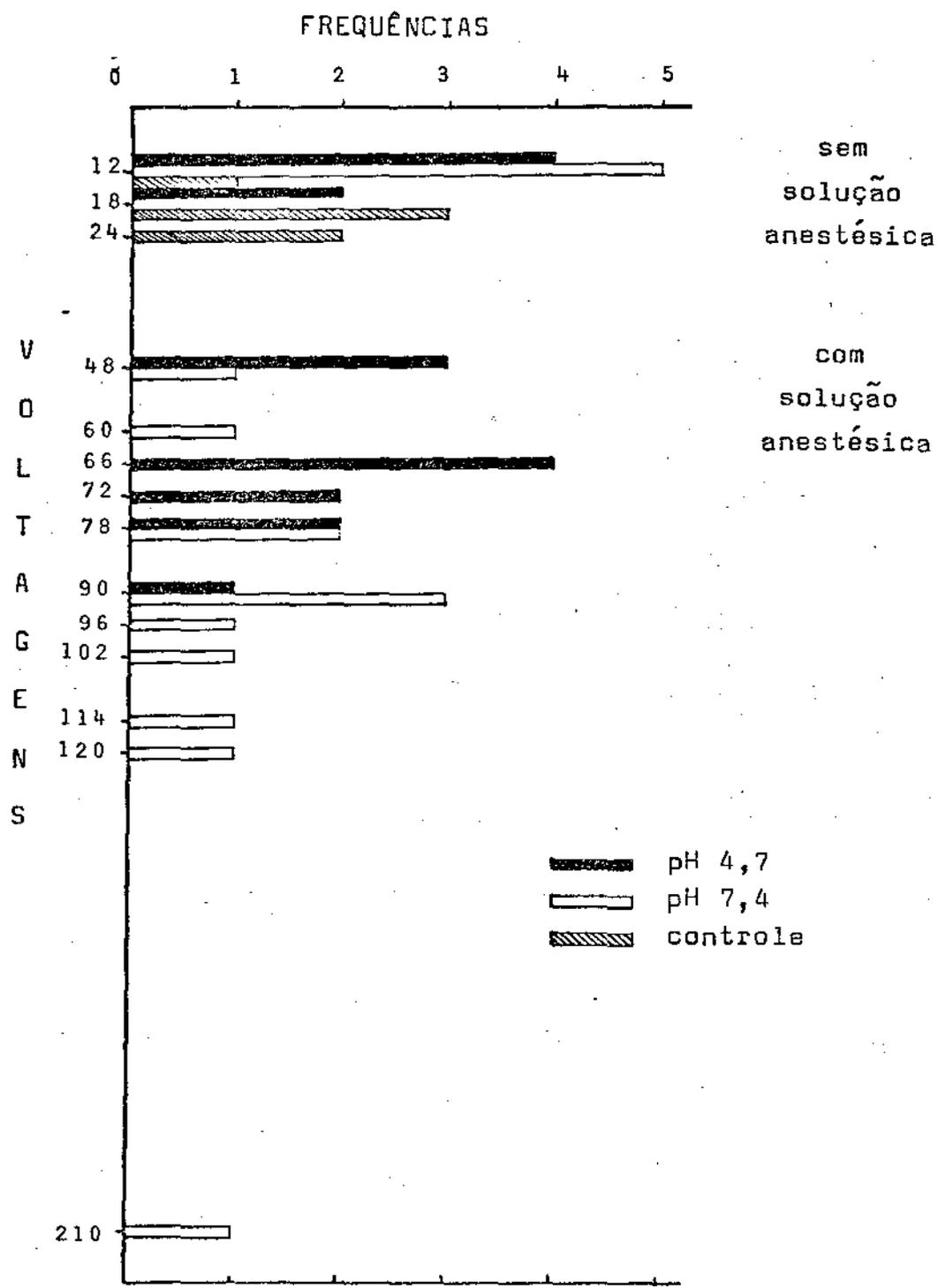
soluções tampão, também não diferem entre si.

Através deste teste, também se verifica que os animais anestesiados com solução de lidocaína com pH 4,7 apresentam, em média, limiar de sensibilidade, expresso em voltagens, significativamente mais alto que os dos animais controle e que os dos animais que receberam soluções tampão.

Verifica-se, ainda, que os animais anestesiados com solução de lidocaína com pH 7,4 apresentam média de limiar de sensibilidade significativamente mais alta do que os animais controle e do que os animais que receberam apenas as soluções tampão.

Entretanto, a média de limiar de sensibilidade, obtida para animais que receberam solução anestésica com pH 7,4 é significativamente maior do que a média obtida para animais que receberam a solução anestésica com pH 4,7.

A Figura I ilustra os resultados aqui apresentados.



F I G U R A I

Distribuição de frequências relativa aos dados da Tabela

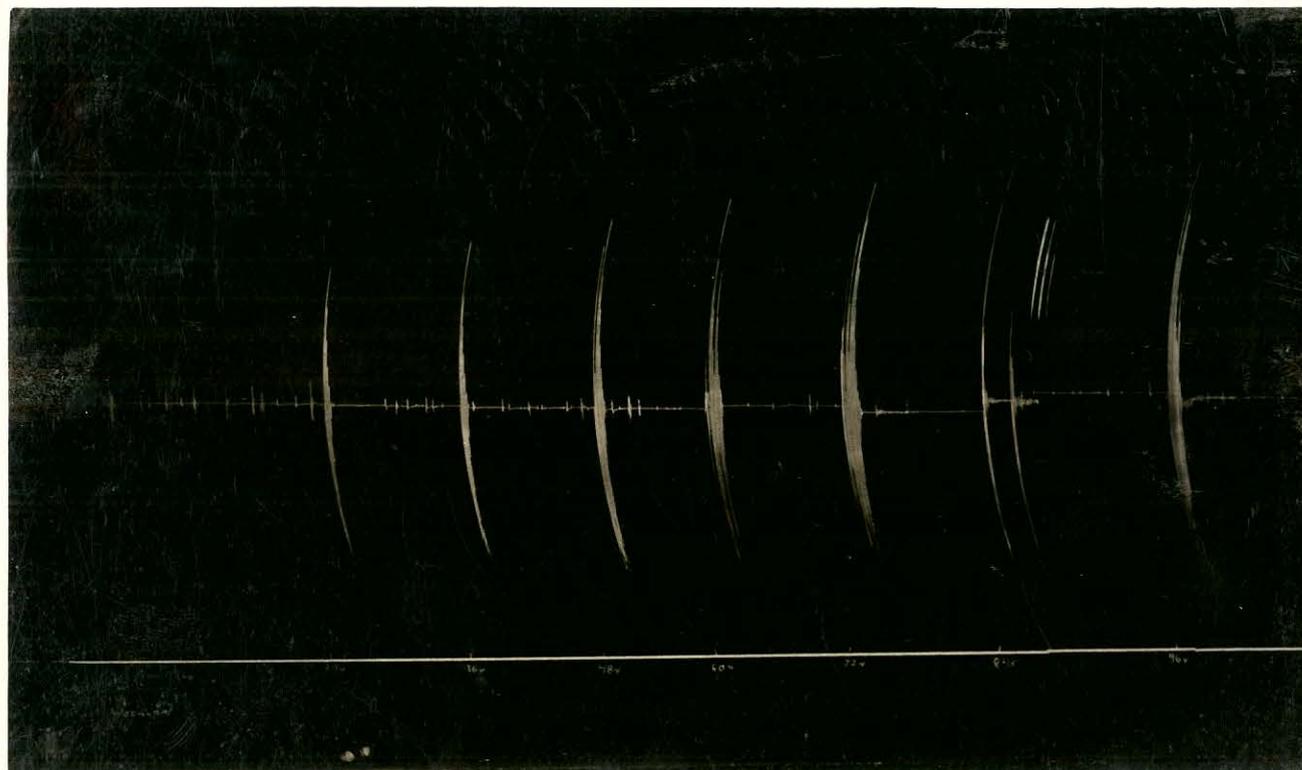
2 - AVALIAÇÃO DO LIMIAR DE SENSIBILIDADE POR MEIO DE REGISTROS EM QUIMÓGRAFO

Também nestes experimentos verificou-se que a anestesia com pH 7,4 era mais eficaz que a realizada com lidocaína em pH 4,7. As Fotografias nº 1 e 2 referem-se ao registro fisiográfico do limiar de sensibilidade de cobaias que recebem anestésico com pH 4,7, e apresentam nítido aumento de amplitude a partir de 24 volts. As Fotografias nº 3 e 4 referem-se a cobaias que receberam anestésico com pH 7,4 e apresentam um limiar à sensibilidade com 60 e 72 volts, respectivamente.

A Tabela III mostra os resultados obtidos.

F O T O G R A F I A I

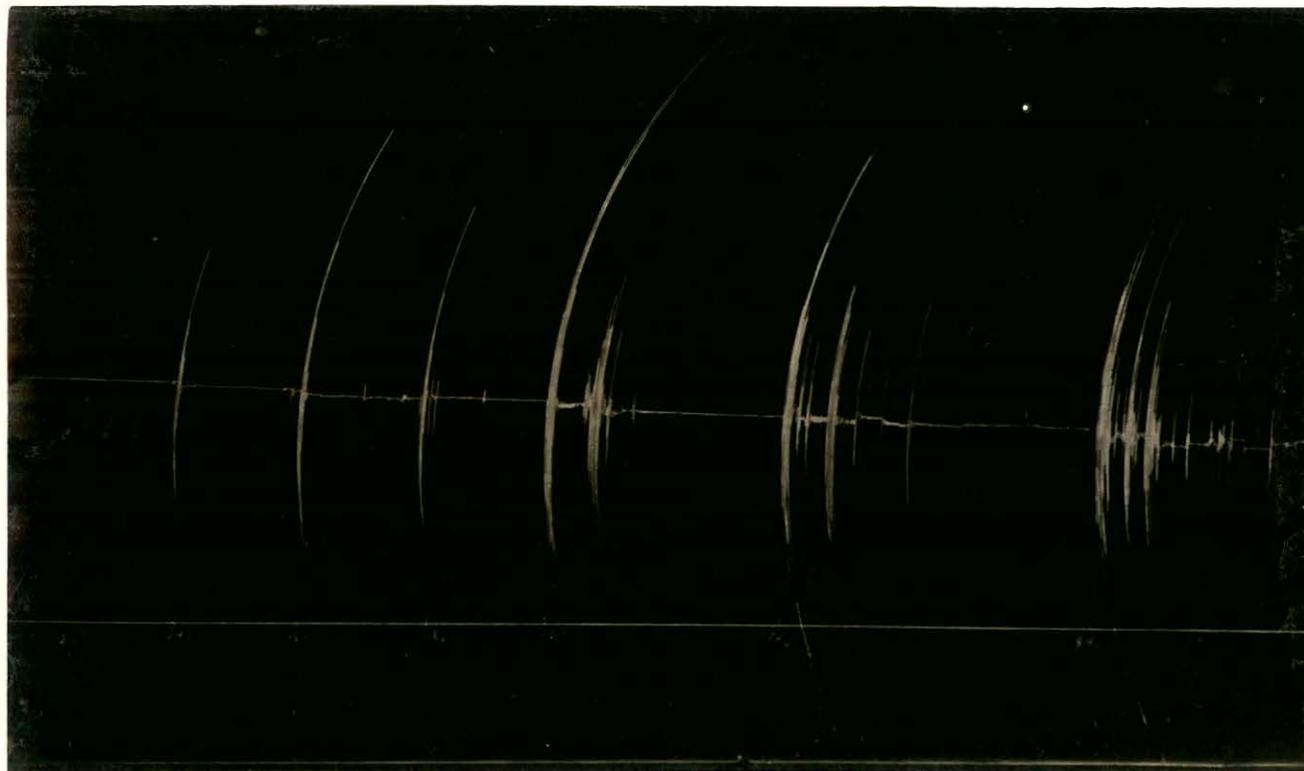
REGISTRO QUIMOGRAFICO



Animal anestesiado com lidocaína, em solução de pH 4,7.
Limiar de sensibilidade em 24 volts.

F O T O G R A F I A I I

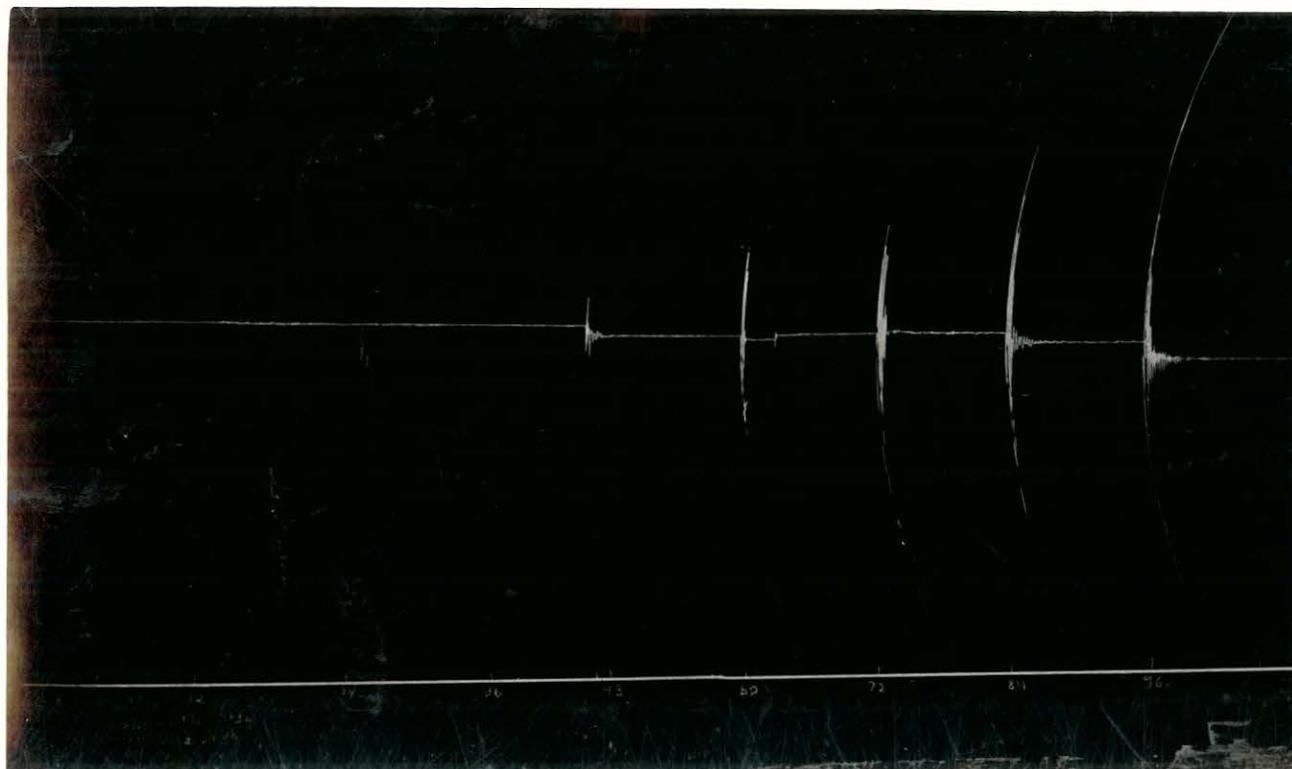
REGISTRO QUIMOGRAFICO



Animal anestesiado com lidocaína, em solução de pH 4,7.
Limiar de sensibilidade em 24 volts.

FOTOGRAFIA III

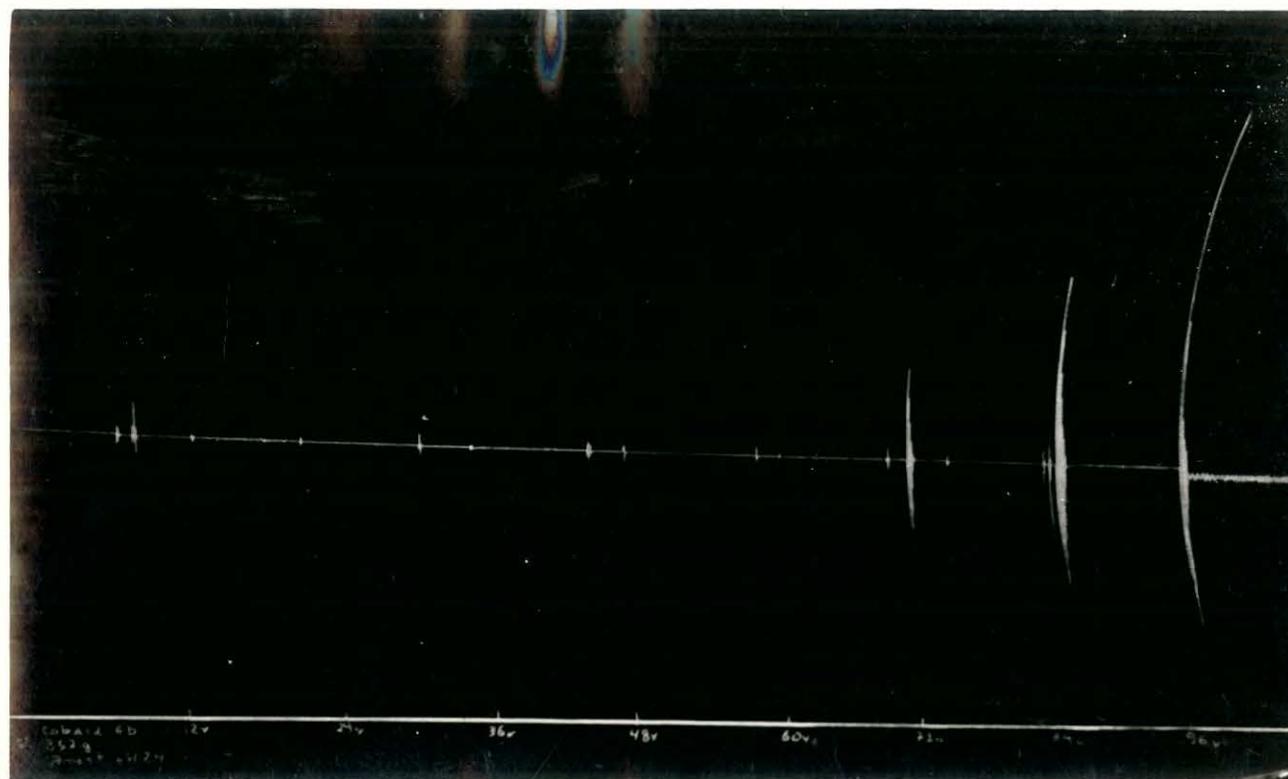
REGISTRO QUIMOGRAFICO



Animal anestesiado com lidocaína, em solução de pH 7,4.
Limiar de sensibilidade em 60 volts.

F O T O G R A F I A I V

REGISTRO QUIMOGRÁFICO



Animal anestesiado com lidocaína, em solução de pH 7,4.
Limiar de sensibilidade em 72 volts.

T A B E L A I I I

Limiar de sensibilidade de cobaias (em volts), avaliado por registro em quimógrafo e tratados com 1 ml de solução anestésica com pH 4,7 ou 7,4.

pH 4,7	pH 7,4
12	48
36	48
12	84
24	60
24	24
12	72
12	36
24	30
24	60
24	36
$\bar{x}_1 = 20,4$	$\bar{x}_2 = 49,8$

Além das médias, eram obtidas as variâncias relativas aos dados dessa tabela.III.

Para o valor 4,7 de pH, a variância é $s_1^2 = 65,6$ e para o valor 7,4 de pH, a variância é $s_2^2 = 368,4$.

Com a finalidade de proceder ao teste t de Student para a comparação de médias, fazia-se previamente um teste para comparar as variâncias. O valor deste teste é dado por $F = s_1^2/s_2^2$.

O valor de F é 5,62, significativo ao nível de 5%, mostrando que as variâncias são diferentes. Este resultado indica que o teste t de Student deve ser aplicado usando a fórmula

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

relativa a f graus de liberdade, onde

$$f = \frac{\left(\frac{s_2^2}{n_2} + \frac{s_1^2}{n_1}\right)^2}{\frac{(s_2^2)^2}{n_2+1} + \frac{(s_1^2)^2}{n_1+1}} - 2$$

Através destas fórmulas, era obtido $t = 4,46$, com aproximadamente $f = 13$ graus de liberdade. Este resultado é significativo ao nível de 5%, indicando que, em média, o limiar de sensibilidade era mais alto para os animais cujos abscessos

eram anestesiados com solução anestésica com pH 7,4, a esse nível de significância.

3 - AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE POR MEIO DA INCISÃO DOS ABSCESSOS

Em 24 animais, divididos em 2 grupos iguais, os abscessos provocados foram anestesiados com solução de lidocaína com pH 4,7, para um grupo, e com pH 7,4, para o outro. Procedia-se, então, à incisão dos abscessos, verificando-se a sensibilidade do animal. Foram assim obtidos os dados que constam na Tabela IV.

T A B E L A IV

Cobaios, classificados de acordo com o pH da anestesia e a sensibilidade.

Sensibilidade	pH	
	4,7	7,4
Positiva	8	3
Negativa	4	9
	12	12

Os dados da Tabela IV foram submetidos ao teste exato de Fisher. O resultado deste teste, $P = 0,0498$, é significativo ao nível de 5%. Portanto, a proporção de cobaias com sensibilidade, anestesiados com solução de lidocaína, quando o pH é 4,7, é significativamente maior que a proporção de cobaias com sensibilidade, quando o pH é 7,4.

4 - TESTE DE DURABILIDADE DA POTÊNCIA ANESTÉSICA

Com a finalidade de verificar a durabilidade da potência da solução anestésica alcalinizada, eram feitos testes diários, durante 20 dias. Para tais testes, foram utilizados 20 cobaias ao todo, um para cada dia, sendo obtidas as voltagens que indicavam o limiar de sensibilidade, por observação direta. Os dados obtidos constam na Tabela V.

T A B E L A V

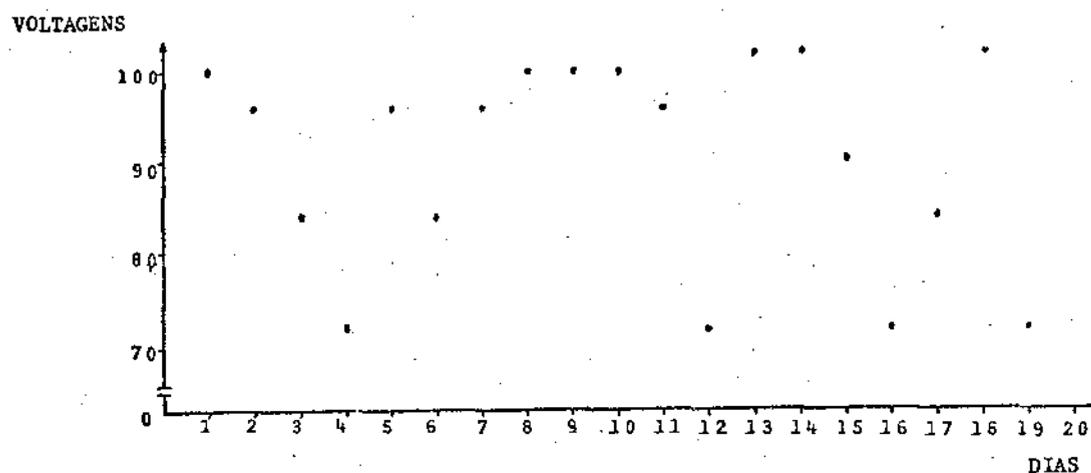
Dias, em ordinais, após o preparo da solução anestésica pH 7,4 e voltagens relativas ao limiar de sensibilidade dos animais, cujos abscessos foram anestesiados com a referida solução.

DIAS	VOLTAGENS
1º	100
2º	96
3º	84
4º	72
5º	96
6º	84
7º	96
8º	100
9º	100
10º	100
11º	96
12º	72
13º	102
14º	102
15º	90
16º	72
17º	84
18º	102
19º	72
20º	72

Era então ajustada uma regressão linear simples aos dados que constam na Tabela V. Usavam-se dias como variável independente (x) e voltagens como variável dependente (y), isto é, estabeleceu-se a regressão $y = a + bx$.

Para coeficiente linear (a) e para coeficiente angular (b) foram obtidos os valores 95,599 e -0,571, respectivamente.

Os resultados aqui apresentados são mostrados graficamente na Figura II.



. F I G U R A II

Representação gráfica dos dados da Tabela V.

O valor do coeficiente de determinação é 0,08% e o valor de F é 1,57.

Ambos os valores indicam que não existe regressão, isto é, durante o período de 20 dias, o limiar de sensibilidade, medido em voltagens, mostrou-se relativamente estável. Este resultado indica que, durante esse período, a potência anestésica da solução foi conservada.

D I S C U S S Ã O

Os resultados obtidos no presente trabalho fornecem elementos suficientes para uma avaliação, pelo menos parcial, da influência do pH das soluções de lidocaína na anestesia local de regiões com inflamação.

A administração de lidocaína em cobaias portadores de abscesso dorsal, com diferentes pH, mostrou um nítido aumento do limiar de sensibilidade com a solução de pH 7,4, em relação àquela de pH 4,7, comumente usada.

Os resultados obtidos são concordantes com o preconizado por JONG & WAGMAN (1963). No que pese a afirmação de GOODMAN & GILMAN (1975), que julga não ter sido objetivamente estabelecido o valor da alcalinização de soluções de anestésicos locais no que tange à sua eficácia, o presente trabalho se constitui na demonstração de método realmente eficaz para objetivar o problema.

A avaliação do limiar de sensibilidade, medido em volts, feita pelos métodos de observação direta e de actógrafo com registro quimográfico, apresentou uma diferença de valores entre esses dois meios de aferição. Enquanto o primeiro método apresentou um limiar de sensibilidade de 66,5 e 98 volts, em média, para as soluções anestésicas de pH 4,7 e 7,4 respectivamente, o limiar determinado pelo segundo método foi de 20,4 e 49,8 volts, em média, para as soluções de pH 4,7 e 7,4. Talvez esta diferença seja devida ao modo de aplicação dos estímulos elétricos : no primeiro caso, os cobaias foram mantidos em posição por um ajudante, enquanto outro experimentador segurava os eletrodos sobre o abscesso e aplicava os estímulos; no se

gundo método, os cobaios ficavam na gaiola do actógrafo, com os eletrodos fixados firmemente sobre o abscesso, o que poderia explicar porque mesmo pequenos aumentos de voltagem causavam uma reação dos animais.

Como era previsível, o segundo processo apresentou maior homogeneidade de resultados. Contudo, a tendência geral do aumento do limiar de sensibilidade conseguido com o uso de soluções mais alcalinas, em relação ao limiar obtido com o emprego de soluções comuns, ácidas, ficou nitidamente estabelecido, quer no processo de observação direta, quer no processo quimográfico.

Esse processo quimográfico, além de simples, oferece resultados reproduzíveis; assim sendo, revela-se como um método de fácil execução para o ensaio biológico de drogas anestésicas em regiões com inflamação, em animais de laboratório.

Do ponto de vista de ensaio biológico, visando esclarecer propriedades farmacodinâmicas que objetivam o uso prático de um fármaco, o processo atualmente proposto afigura-se como vantajoso, pois permite a elucidação do problema em condições patológicas, isto é, de inflamação, sendo, pois, diferente daqueles ensaios realizados com anestésicos locais em tecidos normais. Evidentemente, estes ensaios poderão orientar as possíveis indicações e utilizações dos anestésicos nos casos referidos.

Facilidade de execução e baixo custo operacional são outras vantagens que o método apresenta. E, como ficou evidente, o método oferece um critério quantitativo para a avaliação da sensibilidade.

Das experiências realizadas, ficou realçada a possibilidade da utilização da lidocaína em solução mais alcalina

que as atualmente empregadas. De fato, a solução de lidocaína com pH 7,4, além de se mostrar a mais potente das utilizadas, apresentou estabilidade pelo menos por 20 dias. Seria interessante focalizar um pouco mais detidamente a razão de a solução mais alcalina apresentar melhores resultados que a solução ácida.

Por meio da equação de Handerson-Hasselbach, pode-se calcular a proporção de moléculas não ionizadas nas soluções de pH 4,7 e 7,4.

Assim, de acordo com essa equação :

$$\log \frac{[BH^+]}{[B]} = pK_a - pH$$

onde $[BH^+]$ indica a concentração de moléculas ionizadas, $[B]$ indica a concentração de moléculas não ionizadas e pK_a é a constante de dissociação, que no caso da xilocaína^(R) vale 7,86.

Para se obter a porcentagem de moléculas não ionizadas, indica-se tal concentração, em um total de 100, por x. Obviamente, 100-x indica a concentração de moléculas ionizadas. Da equação de Handerson-Hasselbach, segue-se então que

$$x = \frac{100}{1 + \text{antilog}(pK_a - pH)}$$

Esta fórmula foi aplicada para os valores de pH que constam na Tabela VI. As concentrações de moléculas não ionizadas, assim obtidas, constam da mesma tabela.

T A B E L A VI

Porcentagens de moléculas não ionizadas, obtidas para soluções de diferentes pH, de acordo com a equação de Handerson- Hasselbach.

pH	PORCENTAGENS
4,7	0,069
5,0	0,137
5,5	0,434
6,0	1,361
6,5	4,182
7,0	12,129
7,4	25,746

De fato, com o pH 4,7 a porcentagem de moléculas não ionizadas é apenas 0,069, enquanto que no pH 7,4 é de 25,746. Este fato pode estar correlacionado com a maior atividade anestésica local da lidocaína em solução mais alcalina, de acordo com as observações de RITCHIE, RITCHIE e GREENGARD (1965), TREVAN e BOOCK (1927), EHRENBURG (1948), SKOU (1964), RUD (1961), já citados na introdução deste trabalho.

Extrapolando-se tais resultados de laboratório para as condições de experimentação clínica, parece ser cabível a recomendação de experiências do uso da solução de lidocaína

em níveis mais alcalinos de pH, do que os atualmente encontrados. Ainda mais, levando em consideração a relativa estabilidade dessas soluções, como ficou demonstrado no presente trabalho. Entretanto, é necessário reconhecer que o período de 20 dias seria insuficiente para permitir a indicação dessas soluções com finalidades farmacêuticas e comerciais, porém não seria fora de propósito o uso de preparações de formas farmacêuticas de lidocaína que permitissem a sua solubilização em meio alcalino em momentos próximos de sua utilização.

Aliás, neste campo, fica aberta possibilidade de pesquisas ulteriores, que visem tanto o equacionamento do problema da estabilidade do produto, como investigações sobre o comportamento das soluções no tocante à sua tolerabilidade pelos tecidos.

C O N C L U S Õ E S

1. Os métodos de ensaio por observação direta e por actógrafo com registro quimográfico mostraram-se eficazes para avaliação da potência de soluções anestésicas locais, aplicadas em áreas inflamadas no dorso de cobaios. Contudo, a utilização do actógrafo com registro quimográfico permitiu maior sensibilidade nas observações, em comparação com o método de observação direta.

2. A lidocaína em solução com pH 7,4, mostrou-se estável durante o prazo de 20 dias e revelou-se, ao nível de significância de 5%, mais ativa que a solução com pH 4,7, atuando de maneira eficiente em regiões inflamadas (abscesso de dorso de cobaio).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADAMS, H.J.; KRONBERG, G.H.; TAKMAN, B.H. Primary local anesthetic testing and acute toxicity of N, N'-disubstituted 2,3-Diamino-2',6'-propionoxylidides. J. Pharm. Sci., Washington, 62(10) : 1677-9, 1973.
2. ANTONIO, A.; SILVA, M.R.; YASHUDA, Y. Influence of pH on the inhibitory action of local anaesthetics on smooth muscle contraction. Br. J. Pharmac., London, 40 : 501-7, 1970.
3. BELYAEV, V.I. Comparative study of the effect of novocain, bencain, cocaine, and anesthesin on the electrical activity of the nodes of Ranvier of individual frog nerve fibers. Bull. exp. Biol. Med., U.S.S.R., 76 : 47 - 50, 1973.
4. BERTRAND, M.D. Effect des anestésiques locaux sur les propriétés de liaison. C.r. Acad. Sci., Paris, 9 : 1269-72, 1974.
5. BRIDENBAUGH, P.O. et alii. Preliminary clinical evaluation of Etidocaine (Duranest^(R)) : a new long-acting local anesthetic agent. Acta. anaesth. scand., Aarhus, 18 : 165-71, 1974.
6. CAMPBELL, D. & ADRIANI, J. Absorption of local anesthetics. J. Am. med. Ass., Chicago, 168 : 873-7, 1958.

7. CAMU, F. Effects of local anesthetics on glucose-stimulated insulin secretion from rat pancreas "in vitro". Archs int. Pharmacodyn. Théor., Bruxelles, 204 : 368-72, 1973.
8. CATCHLOVE, R.F.H. Potentiation of two different local anaesthetics by carbon dioxide. Br. J. Anaesth., Manchester, 45 : 471-4, 1973.
9. CERBON, J. NMR evidence for the hydrophobic interaction of local anaesthetics. Possible relation to their potency. Biochim. biophys. Acta, New York, 290 : 51-7, 1972.
10. COHEN, E.N. et alii. The role of pH in the development of tachyphylaxis to local anesthetic agents. Anesthesiology, Lancaster, 29 : 994-1001, 1968.
11. COVINO, B.G. Local anesthesia. New Engl. J. Med., Boston, 286 : 975-83, 1972.
12. DERASARI, H.R. & PATEL, M.N. Screening of some basic amides for local anaesthetic and neuromuscular blocking activity. Indian J. Physiol. Pharmac., Lucknow, 17(1) : 55-62, 1973.
13. EHRENBERG, L. The time-concentration curve of local anesthetics. Acta chem. scand., 2 : 63-81, 1948.
14. EHRENPREIS, S. & ROSEN, G.M. Neuromuscular blocking acti

- on of an alkylating local anaesthetic : site of action and effects of temperature and calcium ions. Nature, Washington, 250 : 576-8, 1970.
15. ENGLESSON, S. & GREVSTEN, S. The influence of acid- base changes on central nervous system toxicity of local a naesthetic agents. Acta anaesth. scand., Aarhus, 18 (2) : 88-103, 1974.
16. FLEISCH, J.H. & TITUS, E. Effect of local anesthetics on pharmacologic receptor systems of smooth muscle. J. Pharmac. exp. Ther., Baltimore, 186(1) : 44-51, 1973.
17. FRAZIER, D.T.; NARAHASHI, T.; YAMADA, M. The site of actii on and active form of local anesthetics. II. Experii ments with quaternary compounds. J. Pharmac. exp. Ther. Baltimore, 171 : 45-51, 1970.
18. GIBBONS, R.S. et alii. Studies of the predominant cultivab le microbiota of dental plaque. Archs oral Biol., Lond on, 9 : 365-470, 1964.
19. GOODMAN, L.S. & GILMAN, A. The pharmacological basis of therapeutics. 5. ed. New York, Macmillan, 1975. p. 375-90,
20. GUERRERO, S.; MONTOYA, G.; MOLGÓ, J. Local anesthetics eff ect of some benzoate compounds and diethylaminoethan ol and their influence on procaine activity. Arzneim-Forsch, Aulendorf, 23 : 951-4, 1973.

21. JONG, R.H. & WAGMAN, I.H. Physiological mechanisms of peripheral nerve block by local anesthetics. Anesthesiology, Lancaster, 24 : 684-727, 1963.
22. KEMP, A.S. & BERKE, G. Inhibition of lymphocyte-mediated cytotoxicity by the local anesthetics benzyl alcohol and salicylic alcohol. Eur. J. Immunol., 3 : 674-7, 1973.
23. KOMISSAROV, J.V.; MAKAROVA, L.E.; RUDENKO, N.Z. Topical anesthetic activity and electron-donating properties of molecules in anesthetics. Farmak. Toks., Moskva, 33 : 681-3, 1970.
24. LOKHANDWALA, M. et alii. Stereochemical investigations of local anesthetic action. J. Pharm. Sci., Washington, 60(5) : 685-9, 1971.
25. LUND, P.C.; CWIK, J.C.; GANNON, R.T. Etidocaine (Dura^(R)nest) : a clinical and laboratory evaluation. Acta anaesth. scand., Aarhus, 18(3) : 176-88, 1974.
26. METCALFE, J.C. & BURGEN, A.S.V. Relaxation of anaesthetics in the presence of cyto-membranes. Nature, London, 220 : 587-8, 1968.
27. NARAHASHI, T.; FRAZIER, D.T.; YAMADA, M. The site of action and active form of local anesthetics. Theory and pH experiments with tertiary compounds. J. Pharmac. exp. Ther., Baltimore, 17(1) : 32-43, 1970.

28. NATHAN, P.W. & SEARS, T.A. Some factors concerned in differential nerve block by local anaesthetics. J. Physiol., London, 157 : 565-80, 1961.
29. PETTER, A.; SCHONENBERGER; ZWEZ, W. Studies on the mechanism of action of local anesthetics. Pharmazie, Berlin, 27 : 759-60, 1972.
30. POGATSA, G.; KALDOR, A.; VISI, E.S. The role of local anesthetic effect in the inhibition of glycogenolysis in the liver of the rat. Arzneim-Forsch, Aulendorf, 23 : 1085-7, 1973.
31. RABINOVITCH, M. & DeSTEFANO, M. Cell to substrate adhesion and spreading : inhibition by cationic anesthetics. J. cell. Physiol., 85 : 189-94, 1975.
32. REEVE, L.W. Modern pharmacodynamic concepts of local anesthesia. Dent. Clin. N. Am., Philadelphia, 14 : 783-804, 1970.
33. RIGAMONTI, L. et alii. Studio clinico sull'impiego di Ble docaina, nuovo anestetico locale di sintesi. Minerva med., Roma, 63 : 3080-101, 1972.
34. RITCHIE, J.M. & RITCHIE, B.R. Local anesthetics. Effect of pH on activity. Science, New York, 162(3860): 1394-5, 1968.
35. _____ ; _____ ; GREENGARD, P. The active strutu

- re of local anesthetics. J. Pharmac. exp. Ther., Baltimore, 150 : 152-9, 1965.
36. ROSEN, G.N.; EHRENPREIS, S.; MITTAG, T.W. Physical and pharmacological properties of an irreversible local anesthetic. J. mednl Chem., 14(6) : 514-6, 1971.
37. RUD, J. Local anesthetics. Acta Physiol. Scand., 51 (Suppl. 178) : 1-171, 1961.
38. SHANES, A.M. Electrochemical aspects of physiological and pharmacological action in excitable cells. Pharmacol. Rev., Baltimore, 10 : 165-273, 1968.
39. SHIMIZU, H. et alii. Accumulation of adenosine 3', 5'- monophosphate in brain slices : interaction of local anesthetics and depolarizing agents. J. Neurochem., London, 20 : 91-5, 1973.
40. SINGER, M.A. Interaction of local anesthetics and salicylate with phospholipid membranes. Can. J. Physiol. Pharmacol., 51 : 785-9, 1973.
41. SKOU, J.C. Local anaesthetics. I. The blocking potencies of some local anaesthetics and of butyl alcohol determined on peripheral nerves. Acta Pharmacol. Toxicol., 10: 281-91, 1954.
42. _____. The effect of drugs on cell membranes with special reference to local anaesthetics. J. Pharm. Phar-

mac., London, 13 : 204-17, 1961.

43. STRAUB, R. Effects of local anesthetics on resting potential of myelinated nerve fibres. Experientia, Basel, 12 : 182-7, 1956.
44. TINLAND, B. Structure-activity relationships for aminoacid esters as local anesthetics. Farmaco (Sci), Pavia, 28(11) : 831-4, 1973.
45. TREVAN, J.W. & BOOCK, E. The relation of hydrogen ion concentration to the action of the local anesthetics. Brit. J. exp. Path., London, 8 : 307-15, 1927.