

PATRÍCIA MARIA WIZIACK ZAGO

Eficácia Anestésica da Prilocaína Lipossomal em Técnica Infiltrativa na Maxila

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, no Programa de Pós-Graduação em Odontologia, para obtenção do título de Mestre em Odontologia, Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica.

Orientadora: Prof. Dra. Maria Cristina Volpato

Co-orientadores: Profa. Dra. Eneida de Paula

Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo

Piracicaba

2010

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**
Bibliotecária: Marilene Girello – CRB-8ª. / 6159

Z13e	Zago, Patrícia Maria Wiziack. Eficácia anestésica da prilocaína lipossomal em técnica infiltrativa na maxila. / Patricia Maria Wiziack Zago. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2010. Orientadores: Maria Cristina Volpato, Eneida de Paula, Francisco Carlos Groppo. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba. 1. Lipossomas. 2. Anestesia local. 3. Anestesia em odontologia. I. Volpato, Maria Cristina. II. Paula, Eneida de. III. Groppo, Francisco Carlos. IV. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. V. Título. (mg/fop)
------	--

Título em Inglês: Anesthetic efficacy of liposomal prilocaine in maxillary infiltration anesthesia

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Liposomes. 2. Anesthesia, local. 3. Anesthesia in dentistry

Área de Concentração: Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica

Titulação: Mestre em Odontologia

Banca Examinadora: Maria Cristina Volpato, Eduardo Dias de Andrade, Juliana Cama Ramacciato

Data da Defesa: 26-02-2010

Programa de Pós-Graduação em Odontologia



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 26 de Fevereiro de 2010, considerou a candidata **PATRÍCIA MARIA WIZIACK ZAGO** aprovada.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be "M. C. Volpato".

Profa. Dra. **MARIA CRISTINA VOLPATO**

A handwritten signature in blue ink, appearing to be "Juliana Cama Ramacciato".

Profa. Dra. **JULIANA CAMA RAMACCIATO**

A handwritten signature in blue ink, appearing to be "Eduardo Dias de Andrade".

Prof. Dr. **EDUARDO DIAS DE ANDRADE**

Dedico este trabalho

A *Deus*, pelo dom da vida, inspiração, presença constante guiando meus caminhos e colocando nele pessoas muito especiais.

À minha mãe *Maria Ester*, por ser a minha mamãe, um grande presente de Deus. Por todo o amor e carinho que dedica gratuitamente, por seus exemplos de luta e de perseverança, pelos ensinamentos que nunca serão perdidos, por ensinar o amor a Deus, pela paciência, pelos conselhos, pelos momentos de sacrifícios, por me escutar tantas vezes, por me apoiar, por chamar a minha atenção, por ser como é.

Ao meu pai *Hélio*, presente de Deus. Pela dedicação e preocupação silenciosa, pelos exemplos de dignidade, trabalho e justiça, por me escutar, pelas conversas e conselhos, pela paciência desprendida, pelo carinho, pelo apoio em tantos momentos.

À minha irmã *Cris*, por ser minha irmã tão especial, tão amiga e companheira, que partilha sua vida e seus sentimentos, que recebe as minhas angústias e me aconselha, que me orienta, que caminha comigo, que me proporciona bons momentos de risadas com muito carinho.

Ao meu irmão *Ri*, por ser meu super irmão, companheiro de tantas aventuras, pela ajuda em vários momentos da vida, pelas risadas, pelas brincadeiras, pelo carinho em me escutar, em me ajudar, principalmente nessa caminhada.

Aos meus *familiares e amigos*, por estarem presentes em tantos momentos da minha vida, partilhando as histórias, dividindo os sentimentos e me apoiando sempre.

Agradecimentos

Em especial à *minha família, pais, irmãos, tios, primos, avós, aos amigos*, obrigada por estarem presentes em minha vida, por todo o apoio, toda a torcida, confiança e carinho que me deram. Obrigada.

À *Universidade Estadual de Campinas*, por meio do Reitor Fernando Ferreira Costa.

À *Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP – UNICAMP)*, por meio do diretor Francisco Haiter Neto.

Ao *Departamento de Ciências Fisiológicas da FOP*, por meio do chefe de departamento *Profa. Dra. Cínthia Pereira Machado Tabchoury*.

Ao *Prof. Dr. Jacks Jorge Júnior*, coordenador dos cursos de Pós-Graduação da FOP/UNICAMP e à *Profa. Dra. Maria Beatriz Duarte Gavião*, coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

Aos professores e amigos da Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica, *Profa. Maria Cristina, Prof. Francisco Groppo, Prof. Pedro, Prof. Eduardo, Prof. José Ranali, Prof. Thales*, e a todos os docentes do Programa de Pós-Graduação em Odontologia de Piracicaba.

À *CNPq* (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela bolsa de mestrado concedida.

À minha orientadora *Profa. Dra. Maria Cristina Volpato*, minha gratidão pela orientação, pelos exemplos de seriedade, honestidade e esforço, pela disposição em sempre me ajudar, pela amizade.

Ao meu co-orientador *Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo* pelas contribuições para a realização do meu trabalho, pelos conselhos, pela amizade.

À minha co-orientadora *Profa. Dra. Eneida de Paula*, pela participação e colaboração fundamental neste trabalho, mesmo à distância.

Aos Professores *Alexandre Augusto Zaia, Vanessa Rocha Lima Shcaira e Cíntia Maria Saia Cereda*, membros da banca de qualificação, pelas sugestões para a realização e finalização deste projeto.

À minha amiga *Dani* pela grande e fundamental ajuda para a realização deste trabalho. Por todo o apoio, conselhos, conversas, almoços, “voluntários”, alegrias e bons momentos compartilhados. Pela sua amizade.

À guria *Leila*, por tantos momentos divertidos, tanta ajuda, conselhos, acolhimento, baladas, fundamental amizade e por estar em todos os lugares!

À *Lu Berto*, por partilhar diversas situações pelos corredores da fàrmaco e pelas salas do biotério, pela sua amizade, pelas diversas dicas, pelas risadas.

Ao *Márcio* do IB, pela manipulação das formulações lipossomais e sem aditivos utilizadas neste trabalho.

Aos amigos farmacológicos, com carinho, *Márcia, Myrella, Cris Berga, Lóci, Karina, Michelle, Vanessa, Bruno, Júlio, Paulo, Sidney, Gilson, Giovana, Leandro, Fabiano, Gisele e Mariana* da iniciação, por todos os momentos que passamos juntos, pela ajuda (em tantos seminários!) pela amizade e companheirismo.

À *profa. Dra. Maria Elvira Pizzigatti Correa*, pelo carinhoso acolhimento para a realização de estágio no Hemocentro – UNICAMP, pela amizade, pelos aconselhamentos e ensinamentos.

Às minhas amigas da graduação, *Lika, Alê, Bárbara e Cá Fillet* pela grande amizade nessa fase da vida tão especial.

Às minhas amigas queridas *Fátima e Camis* sempre tão presentes, tão disponíveis, carinhosas e sábias conselheiras, me apoiando em tantos momentos.

Aos amigos de longa data e jornada do *ministério da música*, pelo apoio incondicional, pelos encontros semanais, pelo imenso carinho, pela torcida, pelos conselhos, pelas partilhas, pela compreensão e grande amizade.

Aos inesquecíveis amigos do colégio e cursinho: *Angela, Nat, Zaza, Marina; Carol P, Carolzinha, Fer, Ferzinha, Lara; Marie, Júlia, Marinete* (as Marias) e *Léo*.

Aos *voluntários* agradeço pela colaboração, disposição, paciência e pela fundamental contribuição para este trabalho.

À *Eliane*, ótima técnica de laboratório, amiga acolhedora, conselheira, sempre pronta a ajudar.

À *Elisa*, secretária eficiente, prestativa, calma e simpática, por sempre me ajudar nas questões burocráticas.

Ao *José Carlos* funcionário da Farmacologia, pela ajuda.

A *todos os funcionários da FOP*, em particular aos *motoristas*, por toda a colaboração.

Aos *amigos e pessoas* que embora não citadas colaboraram e incentivaram, para que este trabalho fosse realizado.

Epígrafe

“Assim é no mundo das almas, o Jardim de Jesus. Ele quis criar os grandes santos que podem ser comparados aos lírios e às rosas e criou também os santos menores, e estes devem contentar-se em serem margaridas ou violetas destinadas a alegrar os olhares de Deus quando os baixa aos pés; a perfeição consiste em fazer sua vontade, em ser aquilo que Ele quer que sejamos...”

Santa Terezinha do Menino Jesus

RESUMO

Estudos em animais têm demonstrado que a encapsulação lipossomal da prilocaína aumenta sua eficácia anestésica em tecidos moles. Este estudo randomizado, cruzado e cego teve por objetivo avaliar a eficácia anestésica da formulação lipossomal de prilocaína 3% comparada à prilocaína 3% sem aditivos e prilocaína 3% com felipressina 0,03UI/mL, aplicadas por técnica infiltrativa na região vestibular do canino superior direito em 32 voluntários. As formulações foram aplicadas em 3 sessões, com ordem aleatória de aplicação e intervalo mínimo de 1 semana. O sucesso, a latência e a duração da anestesia pulpar foram avaliados com aplicação de estímulo elétrico no incisivo lateral, canino e primeiro pré-molar superiores; a latência e duração da anestesia em tecidos moles foram avaliadas por pressão com instrumento rombo na gengiva inserida da região vestibular do canino superior direito e a dor à injeção por meio da escala analógica visual (EAV). Considerou-se como sucesso anestésico quando a latência foi menor ou igual a 10 minutos com duração mínima de 10 minutos. Os voluntários e o pesquisador que avaliou as anestésias não tinham conhecimento da formulação aplicada. Os resultados foram submetidos aos testes Kruskal-Wallis (latência e duração da anestesia pulpar), Tuckey (EAV), Friedman (duração da anestesia gengival), Log Rank e McNemar (sucesso). A formulação lipossomal apresentou resultados semelhantes à formulação sem aditivos ($p>0,05$) e estatisticamente inferiores à prilocaína com felipressina ($p<0,05$), com relação à duração de anestesia gengival e sucesso e duração de anestesia pulpar para o canino e pré-molar. Com relação a latência e sucesso da anestesia no incisivo lateral, a prilocaína lipossomal não diferiu das demais formulações ($p>0,05$) e a prilocaína sem aditivos apresentou menor sucesso e maior latência ($p<0,05$) que a prilocaína com felipressina. As formulações não diferiram quanto à duração de anestesia pulpar para o incisivo lateral, dor à injeção e latência anestésica para canino, pré-molar e gengiva ($p>0,05$). Conclui-se que a prilocaína lipossomal apresenta eficácia anestésica semelhante à solução sem aditivos e menor eficácia do que a

solução de prilocaína com felipressina em infiltração na maxila, não havendo, portanto, vantagem no seu uso.

ABSTRACT

Animal studies have shown that liposome encapsulation increases prilocaine anesthetic efficacy in soft tissues. This randomized, blind, crossover, three period study evaluated the anesthetic efficacy of liposome-encapsulated 3% prilocaine compared to 3% plain prilocaine and 3% prilocaine with 0.03IU/mL felypressin, after 1.8mL infiltration in the buccal sulcus of the maxillary right canine, in 32 volunteers. The formulations were randomly applied in three sessions, spaced one week apart. Anesthesia success and onset and duration of pulpal anesthesia in the lateral incisor, canine and first premolar were evaluated by using an electric pulp tester; onset and duration of soft tissue anesthesia were evaluated by pinprick test in the buccal attached gingiva of maxillary right canine. Injection pain was analyzed through Visual Analogue Scale (VAS). Anesthesia was considered successful when the onset time was less than 10 minutes and the duration was at least 10 minutes. The volunteers and the researcher who evaluated anesthesia parameters were blind to the formulations injected. Results were submitted to Kruskal-Wallis (onset and duration of pulpal anesthesia), Tuckey (VAS), Friedman (duration of gingival anesthesia), Log-Rank and McNemar tests (anesthesia success), ($\alpha=5\%$). Liposomal prilocaine showed similar results in comparison to plain prilocaine ($p>0.05$), and lower anesthesia success and duration for canine and premolar and for duration of gingival anesthesia ($p<0.05$) than prilocaine with felypressin. Liposomal prilocaine did not differ from the other formulations concerning onset and anesthesia success for the lateral incisor ($p>0.05$); plain prilocaine presented lower success rate and slower onset of anesthesia for this tooth in comparison to prilocaine with felypressin ($p<0.05$). No differences were observed among the formulations in relation to duration of anesthesia for lateral incisor, VAS scores and onset of gingival and pulpal anesthesia for canine and premolar ($p>0.05$). In conclusion, liposomal prilocaine presents similar anesthetic efficacy in relation to plain prilocaine and lower efficacy in comparison to prilocaine with felypressin in maxillary infiltration. Therefore, there is no advantage in the use of this formulation.

Sumário

	Página
1- Introdução.....	1
2- Capítulo de artigo científico.....	6
3- Conclusão.....	23
4- Referências.....	24
5- Anexos.....	27
Anexo 1 – Resolução do formato alternativo para defesa CCPG/002/06	27
Anexo 2 – Confirmação de submissão do artigo à revista “ <i>Journal of Liposome Research</i> ”	29
Anexo 3 – Informação sobre a submissão de teses na revista “ <i>Journal of Liposome Research</i> ”	30
Anexo 4 – Certificado de aprovação pelo comitê de ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba	31

INTRODUÇÃO

A maioria dos procedimentos odontológicos está relacionada à produção de estímulos dolorosos. Nesse sentido, os anestésicos locais constituem-se nos fármacos mais utilizados na prática clínica por sua propriedade de interromper a condução de estímulos nervosos de determinada área circunscrita do corpo, evitando que o paciente sinta dor (Malamed, 2004).

À exceção da cocaína, todos os anestésicos locais promovem, em graus variados, vasodilatação no local onde foram infiltrados (Aps & Reynolds, 1976). A vasodilatação aumenta a velocidade de absorção do anestésico local para o sangue, o que reduz a duração da ação anestésica. Muitas vezes, na tentativa de se obter anestesia de duração mais prolongada com soluções sem a adição de vasoconstritor, pode-se atingir níveis plasmáticos tóxicos com maior facilidade (Andrade, 2006).

Assim como a lidocaína, mepivacaína e articaína, a prilocaína é um anestésico do tipo amida, considerado de duração de ação intermediária e que apresenta menor toxicidade do que a lidocaina, devido a sua rápida biotransformação pelo organismo (McLure & Rubin, 2005). Apresenta 50% da capacidade vasodilatadora da lidocaína e por isso é clinicamente eficaz nas concentrações de 4% sem vasoconstritor, 4% com epinefrina 1:200.000 e ainda 3% com felipressina 0,03UI/mL, sendo apenas esta última disponível comercialmente no Brasil. Quando usado sem vasoconstritor, na concentração de 4%, promove anestesia pulpar de 10 a 15 minutos em técnica infiltrativa ou até 60 minutos em técnica de bloqueio; quando associado a vasoconstritor sua eficácia na anestesia infiltrativa aumenta, e a duração da anestesia pulpar pode estender-se além de 60 minutos (Costa *et al.*, 2005; Malamed, 2004).

Uma das metas da medicina e da odontologia, no que diz respeito aos anestésicos locais, é a descoberta de formulações menos tóxicas, mas que apresentem a mesma ou maior eficácia clínica do que aquelas atualmente em uso.

Além das pesquisas com isômeros menos tóxicos de anestésicos, como a ropivacaína e a levobupivacaína, um campo relativamente novo e potencialmente promissor é o do desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de drogas como lipossomas e polímeros (Kuzma *et al.*, 1997). Esses sistemas, por permitirem a liberação mais lenta do fármaco, ao mesmo tempo em que aumentam a duração de ação, também diminuem a toxicidade potencial do mesmo (Gesztez & Mezei, 1988; Langerman *et al.*, 1992; Boogaerts *et al.*, 1993 a,b; Mowat *et al.*, 1996; Bucalo *et al.*, 1998).

A encapsulação em lipossomas e em polímeros como a ciclodextrina tem sido estudada com vários fármacos, como antineoplásicos, antibióticos, antifúngicos e anestésicos locais, sendo que alguns deles já estão disponíveis comercialmente nos EUA, na forma encapsulada em lipossomas (DOXIL[®] - doxorubicina, DEPOCYT[®] -citarabine, AMBISOME[®] -anfotericina B e L-MAX[®] - lidocaína 4% creme em veículo lipossomal).

Os lipossomas são conhecidos desde a década de 1960 e consistem de esferas formadas por uma ou mais bicamadas de lipídeos, com as caudas hidrofóbicas voltadas para o interior da bicamada, delimitando, dessa forma, uma cavidade central hidrofílica. Com essa constituição, são capazes de encapsular fármacos hidrossolúveis (que tendem a permanecer na cavidade central aquosa) ou lipossolúveis (no interior da bicamada), limitando sua biotransformação e permitindo que alcancem o sítio de ação em concentrações efetivas maiores (Ranade, 1989; Sharata & Katz, 1996).

De acordo com o número de camadas, os lipossomas podem ser classificados como uni ou multilamelares. O tamanho do lipossoma é um fator importante, pois afeta de forma significativa sua biotransformação. Lipossomas com tamanho menor que 120nm atravessam rapidamente os capilares, podendo levar a tempo menor de ação do fármaco, enquanto que lipossomas maiores tendem a permanecer por mais tempo no local de injeção (Kuzma *et al.*, 1997; Grant & Bansinath, 2001)

Por apresentar constituição semelhante à das membranas biológicas, os lipossomas apresentam baixa toxicidade e imunogenicidade reduzida ou inexistente (Kuzma *et al.*, 1997; Malinovsky *et al.*, 1997). Além disso, não promovem lise de eritrócitos (Yoshihara & Nakae, 1986; Parnham & Wetzig, 1993; Stensrud *et al.*, 1999; Fraceto *et al.*, 2002) e não possuem efeito pró-agregante plaquetário (Pinto *et al.*, 2000; Fraceto *et al.*, 2002; Pinto *et al.*, 2004).

O uso de anestésicos locais encapsulados em lipossomas tem como vantagens a liberação lenta da droga, prolongando a duração da anestesia (de Paula *et al.*, 2010) e reduzindo a toxicidade para o sistema cardiovascular e sistema nervoso central (Gesztos & Mezei, 1988; Langerman *et al.*, 1992; Boogaerts *et al.*, 1993 a,b; Mowat *et al.*, 1996; Bucalo *et al.*, 1998) e a citotoxicidade (De Araujo *et al.*, 2008), permitindo assim o uso de formulações anestésicas sem adição de vasoconstritor. Pacientes que recebem grandes doses e/ou aplicações repetidas de formulações anestésicas, como aqueles submetidos a cirurgias que necessitem de controle de dor pós-operatória ou com dores crônicas, seriam beneficiados (Kuzma *et al.*, 1997). No entanto, para procedimentos com a necessidade de controle de sangramento, a ausência do vasoconstritor não representaria vantagem.

Vários estudos em animais comprovaram a maior eficácia, em tecidos moles, de anestésicos encapsulados em lipossomas, comparados a soluções não encapsuladas. Yu *et al.* (2002) observaram efeito anestésico mais prolongado e nível plasmático constante da bupivacaína lipossomal em relação à solução não encapsulada, em ratos. A maior eficácia anestésica de preparações lipossomais também foi observada por De Araújo *et al.* (2004; 2008) com a mepivacaína e ropivacaína em bloqueio sensitivo e motor em camundongos; com a prilocaína (Cereda *et al.* 2004) e prilocaína, lidocaína e mepivacaína (Cereda *et al.*, 2006) em bloqueio sensitivo em ratos.

Em humanos a eficácia anestésica de suspensões lipossomais tem sido observada em preparações para uso tópico em pele (Hung *et al.*, 1997; Fischer *et al.*, 1998; Bucalo *et al.*, 1998; Friedman, 1999; Eichenfield *et al.*, 2002; Grant *et al.*

2004; Carter *et al.*, 2006) e em infiltração para uso médico (Lafont *et al.*, 1994; Boogaerts *et al.*, 1994; Lafont *et al.*, 1996). Assim, a infiltração de suspensão lipossomal de bupivacaína demonstrou maior efetividade que a preparação não lipossomal no controle da dor em bloqueio do plexo braquial em paciente com dor crônica no braço (Lafont *et al.*, 1994), por via epidural no controle da dor em paciente com câncer pulmonar em estágio terminal (Lafont *et al.*, 1996) e por via epidural em estudo de controle de dor pós-operatória de cirurgias maiores abdominal, vascular, urológica, torácica e ortopédica (Boogaerts *et al.*, 1994). Além do aumento do tempo de analgesia, nesses estudos também ficou evidente a diminuição da toxicidade com o uso das suspensões lipossomais pela menor concentração plasmática do anestésico local (bupivacaína), bem como pela ausência do vasoconstritor e seus efeitos sobre o sistema cardiovascular.

Em odontologia, um resumo e um artigo foram publicados relatando efetividade de anestésicos lipossomais para uso tópico à base de tetracaína (Zed *et al.*, 1996) e de ropivacaína (Franz-Montan *et al.*, 2007).

Para uso injetável, há dois estudos comparando suspensões lipossomais de anestésicos locais em técnica infiltrativa na maxila com resultados distintos. No estudo de Franz-Montan (2009) a encapsulação em lipossomas não aumentou a efetividade da ropivacaína, sendo mais efetiva a preparação aquosa comercial. Para a mepivacaína, entretanto, a formulação lipossomal mostrou resultados promissores (Tofoli *et al.*, 2008). A injeção de 1,8mL de formulação lipossomal de mepivacaína 3% em técnica infiltrativa na região de canino superior promoveu maior duração de ação comparada à infiltração de solução de mepivacaína 3%. Além disso, a formulação de mepivacaína 2% lipossomal apresentou duração anestésica equivalente à conseguida com a solução de mepivacaína 3%, mostrando assim, que encapsulação foi efetiva e pode ser promissora para esse anestésico local.

Em adição ao aumento da duração da anestesia sem a necessidade da incorporação de outros aditivos, há ainda a questão do pH das soluções. Soluções anestésicas contendo vasoconstritores como aditivos, apresentam pH entre 3,3 e

5,5 (Malamed, 2004), enquanto que as suspensões lipossomais são preparadas com pH próximo do fisiológico, de cerca de 7,4 (Cereda et al., 2006). Desta forma poderiam ser menos propensas a promoverem dor ou sensação de ardência durante sua aplicação, o que resultaria, para o paciente, em uma menor sensação dolorosa ou de desconforto, e consequentemente, em menor estresse durante a injeção.

Além da mepivacaína, outro anestésico com potencial promissor para encapsulação é a prilocaína. Embora a porcentagem de incorporação da prilocaína nas vesículas (12%) seja menor que a da bupivacaína (24,8%) e da lidocaína (19%), foi demonstrado maior efeito anestésico da formulação lipossomal de prilocaína 3% em comparação com a solução de prilocaína 3% sem vasoconstritor e efeito equivalente ao da prilocaína 3% com felipressina 0,03UI/mL, em bloqueio do nervo infraorbital em ratos (Cereda *et al.*, 2004). Na concentração de 2%, com o mesmo tipo de bloqueio, foi observado aumento de 30% na duração da anestesia com o uso de suspensão lipossomal de prilocaína em comparação com a solução de prilocaína (Cereda *et al.*, 2006).

Esses resultados, embora promissores, compreendem apenas avaliação de bloqueio sensitivo em tecido mole e não podem ser extrapolados para a anestesia pulpar. Assim, o presente estudo teve por objetivo avaliar a eficácia da formulação lipossomal de prilocaína na anestesia pulpar após infiltração na maxila.

Esta tese está de acordo com a deliberação da Comissão Central de Pós-Graduação (CCPG) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) nº 001/98 (Anexo 1), que regulamenta o formato alternativo para dissertação e tese, permitindo a inserção de artigos científicos de autoria ou co-autoria do candidato, sendo composta de um capítulo referente ao artigo submetido para publicação na revista *Journal of Liposome Research* (Anexo 2).

CAPÍTULO

ANESTHETIC EFFICACY OF LIPOSOMAL PRILOCAINE IN MAXILLARY INFILTRATION ANESTHESIA

Patrícia Maria Wiziack Zago¹. DDS.

Daniela Belisario Baroni¹. DDS.

Francisco Carlos Groppo¹. PhD.

Eneida de Paula². PhD.

José Ranali¹. PhD.

Maria Cristina Volpato¹. PhD.

¹Department of Physiological Sciences, Piracicaba Dental School, University of Campinas – UNICAMP; ² Department of Biochemistry, Institute of Biology, University of Campinas – UNICAMP

Corresponding author:

Maria Cristina Volpato

Av. Limeira, 901 – Bairro Areião

ZIP: 13414-903 Piracicaba, São Paulo, Brazil

Phone: 55 19 3412 5310

FAX: 55 19 3412 5218

E-mail: mcristinavolpato@gmail.com

Key-words: pulpal anesthesia, liposome, local anesthetics, dental anesthesia

Abstract

Animal studies have shown that liposome encapsulation increases prilocaine anesthetic efficacy. This randomized, blind, crossover, three period study evaluated the anesthetic efficacy of liposome-encapsulated 3% prilocaine compared to 3% plain prilocaine and 3% prilocaine with 0,03IU/mL felypressin, after 1.8mL infiltration in the buccal sulcus of the maxillary right canine, in 32 volunteers. Anesthesia success, onset and duration of pulpal and gingival anesthesia in the lateral incisor, canine and first premolar were evaluated. Injection pain was analyzed through Visual Analogue Scale (VAS). Results were submitted to Kruskal-Wallis (onset and duration of pulpal anesthesia), Tuckey (VAS), Friedman (duration of gingival anesthesia), Log-Rank and McNemar tests (anesthesia success), ($\alpha=5\%$). Liposomal prilocaine showed similar results in comparison to plain prilocaine ($p>0.05$), and lower anesthesia success and duration for canine and premolar and for duration of gingival anesthesia ($p<0.05$) than prilocaine with felypressin. Liposomal prilocaine did not differ from the other formulations concerning onset and anesthesia success for the lateral incisor ($p>0.05$); plain prilocaine presented lower success rate and slower onset of anesthesia for this tooth in comparison to prilocaine with felypressin ($p<0.05$). No differences were observed among the formulations in relation to duration of anesthesia for lateral incisor, VAS scores and onset of gingival and pulpal anesthesia for canine and premolar ($p>0.05$). In conclusion, liposomal prilocaine presents similar anesthetic efficacy in relation to plain prilocaine and lower efficacy in comparison to prilocaine with felypressin in maxillary infiltration. Prilocaine does not seem to benefit from liposomal encapsulation.

Introduction

Most of the dental procedures requires local anesthesia to prevent intraoperative pain. Prilocaine is an amide-type local anesthetic used in dentistry since the 1960's, which presents less vasodilating properties and lower toxicity than lidocaine (McLure & Rubin, 2005; Malamed, 2004). Its onset of action varies from 1.6 to 4 minutes after maxillary infiltration (Donaldson et al., 1987; Volpato et al., 2001) and from 2.2 to 11 minutes after inferior alveolar nerve block (Donaldson et al., 1987; Hinkley et al., 1991; McLean et al., 1993).

When used as plain solution, at 4% concentration, the infiltration provides short pulpal anesthesia duration (10 to 15 minutes) while inferior alveolar nerve block may provide pulpal anesthesia for up to 60 minutes (McLean *et al.*, 1993; Malamed, 2004). The addition of a vasoconstrictor, such as 1:200,000 epinephrine or 0.03IU/ml felypressin, increases pulpal anesthesia duration for more than 60 minutes after maxillary infiltration (Malamed, 2004; Costa et al., 2005) and it is an important factor for prilocaine efficacy in this type of anesthetic technique.

Many additives and control drug release systems have been studied to increase local anesthetic efficacy (de Paula et al., 2010; Robaux et al., 2004; Brkovic et al., 2005), among which the encapsulation in liposomes have attracted the attention of researchers (Grant et al., 2004). Liposomes are vesicles composed by one or more phospholipid bilayers surrounding an aqueous core, which can act as a reservoir of hydrophilic and lipophilic drugs. Due to its similarity to biological membranes liposomes presents biocompatibility, low toxicity (Mallinovsky et al., 1997; Grant, 2002; Cereda et al., 2008), and are able to be administered by most routes of administration (Boogaerts *et al.*, 1994; Lafont et al., 1994; Lafont et al., 1996; Grant, 2002; Grant et al., 2004; Franz-Montan et al., 2007).

Encapsulation of prilocaine has been shown to increase soft tissue anesthesia duration, when compared to plain prilocaine, after infraorbital nerve block in rats (Cereda et al., 2004; Cereda et al., 2006). In addition, in humans, the encapsulation of mepivacaine increased pulpal anesthesia duration after maxillary infiltration (Tófoli et al., 2008). Based on these previous studies, this clinical trial

was conducted to evaluate the pulpal anesthetic efficacy of liposomal prilocaine in maxillary infiltration in humans.

Methods

This randomized, blind and crossover investigation had involvement of thirty two healthy subjects (17 females and 15 males) aging from 19 to 33 years-old (mean age: 25.41 ± 3.87). The Ethical Committee of the Piracicaba Dentistry School – UNICAMP – Brazil previously approved the study protocol 062/2004, and all the subjects signed a written informed consent. With data from a previous investigation (Brunetto et al., 2008) and a type I error set at 0.05, a power calculation dictated that a sample size of 32 would give 90% power.

All the subjects were in good health, had no history of allergy to the components of the local anesthetic formulations tested, and were not taking any medication that would alter pain perception, as determined by oral questioning and written health history. All test and control teeth were responsive to electric stimulation (pulp tester), had no history of trauma or sensitivity and were free of caries, restorations, periodontal disease and endodontic treatment.

Each subject attended 3 visits that were scheduled at least 1 week apart, in a repeated-measures design. All visits occurred from 11 am to 2 pm to avoid circadian cycle interference on subject response threshold (Lemmer & Wiemers, 1989). At each visit, subjects received 1.8 mL of one of the following formulations, into the buccal sulcus in the maxillary right canine region: 3% liposomal prilocaine (LipoPrilo) pH 6.5, 3% prilocaine with 0.03 IU/mL felypressin (Citocaína®, Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda, Itapira, SP, Brazil) – (Felyprilo) pH 4.3, and 3% plain prilocaine (Prilo) pH 5.2. Liposomal and plain formulations were prepared at the Department of Biochemistry, Institute of Biology, University of Campinas, SP, Brazil. The liposomes consisted of large unilamellar vesicles of homogenized sizes (400nm), prepared following a previous described methodology (Cereda et al., 2004). Briefly, a dry lipid film containing egg phosphatidylcholine, alpha-tocopherol and cholesterol (in a 4:0.07:3 molar

ratio) was obtained after solvent evaporation under nitrogen flow. HEPES buffer (20mM) pH 7.4 was added to the dry lipid film and the mixture were vortexed. The multilamellar liposomes thus obtained were extruded (12 cycles, 400nm polycarbonate membrane, at 25°C) to form unilamellar liposomes. The total lipid concentration was 5mM. Prilocaine solution was added to the unilamellar liposomes up to a final 3% concentration (the same concentration of the commercially available felypressin-containing prilocaine). The formulations were steam sterilized by autoclaving for 15 min at 121°C and 1 atm. Pyrogenic contamination was tested by *Limulus amoebocyte lysate* assay.

The formulation injected at each appointment was randomized. All the injections were performed by the same operator (PMWZ) with a 3mL Luer-Lok syringe (Becton Dickinson, Curitiba, PR, Brazil) fitted with a short 30-gauge needle (Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, 07417). The formulations were injected at a rate of 1mL/min after aspirating technique. To reduce pain due to needle insertion, 20% benzocaine gel (Benzotop® - DFL Ind Com Ltda, Rio de Janeiro, Brazil) was previously applied during 2 minutes at buccal sulcus of the maxillary right canine.

At the beginning of each appointment, and before the topical anesthetic application, the maxillary right canine, first premolar and lateral incisor and maxillary left canine were individually tested, in this order, 3 times with an electronic pulp tester (Model 2006, Analytic Technology Corp, Redmond, Wash) to determine the baseline response, which was considered as the mean of the three measurements for each tooth. After isolation of the teeth with cotton rolls and drying them with gauze a small portion of fluoride gel was applied to the probe tip, which was placed on the buccal side, midway between the gingival margin and the occlusal edge of the tooth, according to Analytic Technology Corp recommendation. The current rate of the pulp tester was set up to increase from no output (0) to the maximum output (80µA) at 30 seconds, and the interval between measurements was 2 minutes. The maxillary left canine was used as a control to ensure pulp tester properly operation and volunteer accurate response during the study. Every two minutes after injection, the same teeth, in the order previously

described, were tested until no response to the maximum stimulus was obtained (80 reading). After that the teeth were tested every 10 minutes until two consecutive positive responses to the pulp tester were obtained. All the pulp testing was performed by a trained person, who was blinded to the formulations injected.

Gingival anesthesia was evaluated by pinprick test at the maxillary right canine buccal gingiva at the same time intervals of pulp testing in this tooth (McLean et al, 1993; Franz-Montan et al., 2007).

Onset of pulpal anesthesia was defined as the time from the end of injection to the first of 2 consecutive readings of 80 without response. Pulpal anesthesia duration was considered as the time from the onset of pulpal anesthesia to the time recorded before 2 consecutive positive responses to the pulp tester were obtained.

Onset of gingival anesthesia was the time from the end of injection to the beginning of numbness in the maxillary right canine buccal gingiva. Duration of gingival anesthesia was the time from the beginning to the end of numbness in the maxillary right canine buccal gingiva. Anesthesia was considered successful when the onset time was less than 10 minutes and the duration was at least 10 minutes.

Volunteers were asked to rate the injection pain on a 10cm visual analog scale (VAS), with end points tagged “no pain” and “pain as bad as could be”.

Data were analyzed with Bioestat, version 5.0 (Mamiraua Institute, Belem, PA, Brazil). The following tests were used to analyze the results: Kruskal-Wallis (onset and duration of anesthesia), Tuckey (injection pain - VAS results), Friedman (duration of pulpal anesthesia), and Log-Rank and McNemar (anesthesia success). The significance level was set at 5%.

Results

All 32 recruited volunteers (17 women and 15 men) completed the investigation. The incidence of pulpal anesthesia (no response to 80 reading) throughout the testing period are presented in Figure 1 for lateral incisor, canine and first premolar. Higher anesthesia success was obtained after prilocaine with

felypressin injection than with the other formulations for canine and first premolar ($p<0.05$). Figure 1 shows significant differences between prilocaine with felypressin and each of the other formulations. No difference was observed between liposomal prilocaine and plain prilocaine for these teeth. For lateral incisor prilocaine with felypressin provided higher anesthesia success than plain prilocaine ($p<0.05$); liposomal prilocaine did not differ from the other formulations ($p>0.05$). Gingival anesthesia was successful with all formulations (100%).

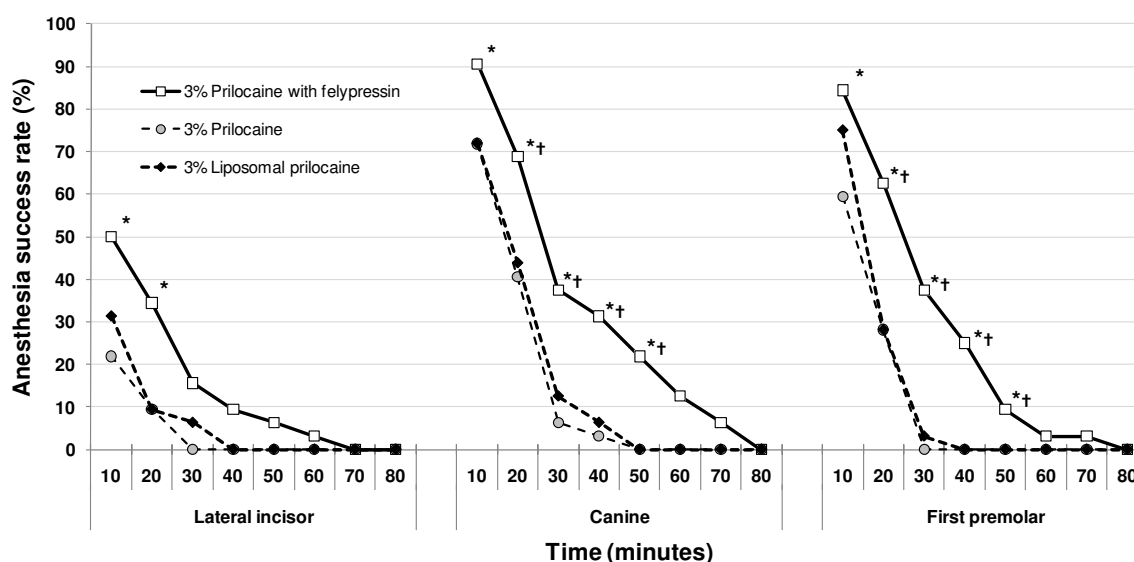


Figure 1. Anesthesia success (%) for lateral incisor, canine and first premolar after 1.8mL infiltration of tested formulations in the buccal sulcus of maxillary right canine. Significant differences ($p<0.05$) are marked with † (3% prilocaine with felypressin versus 3% liposomal prilocaine) and with * (3% prilocaine with felypressin versus 3% prilocaine).

Results of onset and duration of pulpal and gingival anesthesia are presented in Table 1. No statistically differences were observed among formulations for onset of pulpal anesthesia in canine and first premolar ($p>0.05$). Plain prilocaine induced slower onset of pulpal anesthesia ($p=0.002$) than prilocaine with felypressin in the lateral incisor. No differences ($p>0.05$) were

observed between liposomal prilocaine and the other formulations in relation to onset of anesthesia in the lateral incisor.

The median (and interquartile range), in minutes, of onset of gingival anesthesia for all formulations was 2(0) minutes, with no difference among them ($p>0.05$).

Table 1. Onset and duration of pulpal and gingival anesthesia (median and interquartile range, in minutes) after buccal infiltration in the maxillary canine.

		Anesthetic Formulation		
Teeth		Prilocaine with felypressin	Liposomal Prilocaine	Plain Prilocaine
Onset of anesthesia	Lateral Incisor	2 (0)*	4 (4)	6 (3,5)
	Canine	2 (0)	2 (0)	2 (0)
	First premolar	2 (2)	2 (2)	2(0,5)
	Gingiva	2 (0)	2 (0)	2 (0)
Duration of anesthesia	Lateral Incisor	20 (20)	10 (7,5)	10 (10)
	Canine	20 (20)* †	20 (10)	20 (10)
	First premolar	20 (25)* ‡	10 (10)	10 (10)
	Gingiva	186.5 (48.5) ¶	105 (40.8)	78 (40.5)

* $p<0.01$ between prilocaine with felypressin and plain prilocaine

† $p<0.05$ between prilocaine with felypressin and liposomal prilocaine

‡ $p<0.01$ between prilocaine with felypressin and liposomal prilocaine

¶ $p<0.05$ between prilocaine with felypressin and the other formulations

Prilocaine with felypressin provided higher ($p<0.05$) duration of gingival anesthesia than plain prilocaine and liposomal prilocaine, with no difference between these formulations ($p>0.05$).

Higher duration of pulpal anesthesia ($p < 0.05$) for canine and first premolar was observed after infiltration of prilocaine with felypressin, with no difference ($p > 0.05$) between plain prilocaine and liposomal prilocaine. No differences among the formulations were observed for duration of lateral incisor anesthesia ($p > 0.05$).

The results of injection pain (VAS scores, in cm) are shown in Figure 2. No differences were observed among formulations ($p = 0.11$) in relation to injection pain.

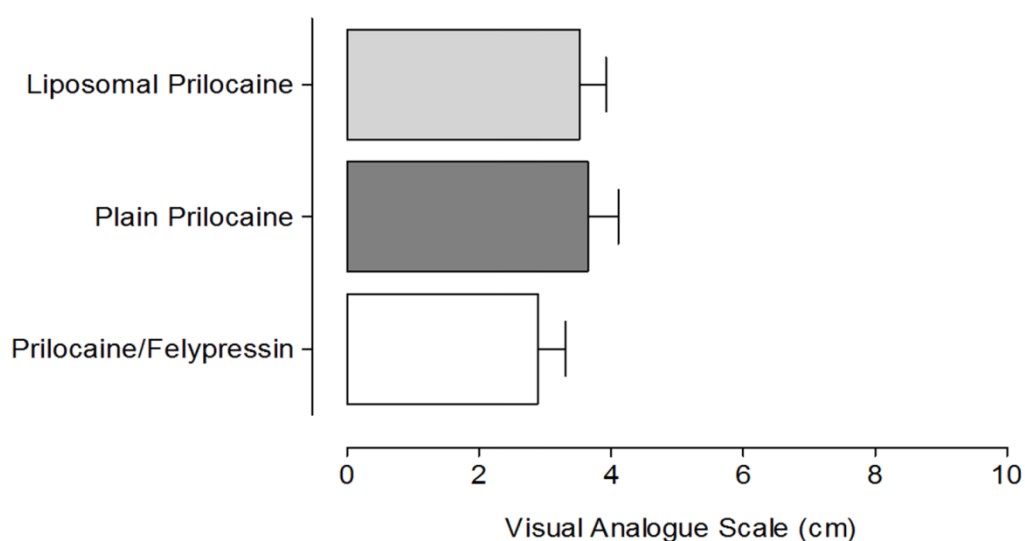


Figure 2. VAS scores (mean and standard error mean, in cm) rated by volunteers after injection of 1.8mL of each formulation.

Discussion

Prilocaine with felypressin is related to provide 77.8% to 80% of anesthesia success after maxillary infiltration (Petersen et al., 1977; Nordenram & Danielsson, 1990), with an onset between 2 to 3 minutes and duration ranging from 24.8 to 61.6 minutes (Petersen et al., 1977; Nordenram & Danielsson, 1990; Volpato et al., 2001; Costa et al., 2005). Therefore, the results obtained in the present study with prilocaine associated to felypressin are consistent with these related in the literature. The maxillary canine (target tooth) was anesthetized in 70% of the

prilocaine with felypressin injections, with an onset of 2 minutes and duration of 20 minutes (mean=30.3 minutes).

Liposomal encapsulation has been reported as an alternative to vasoconstrictors to increase efficacy and reduce local anesthetic toxicity (Boogaerts et al, 1994; Lafont et al.; 1994; Lafont et al., 1996).

Previous studies with animal models have shown increased anesthesia duration of lidocaine, prilocaine and mepivacaine liposomal formulations when compared to their respective plain solutions, after infraorbital nerve block in rats (de Araújo et al., 2004; Cereda et al. 2004; Cereda et al., 2006). The results of the present study did not confirm these previous results obtained in animals. Differences in species, technique and in the parameter studied could have contributed to the different results. While those authors evaluated soft tissue anesthesia (maxillary lip), after an injection of the formulation in direct contact with the nerve trunk, in the present study the formulation was injected supraperiosteally and would have to cross the periosteum and bone to reach the terminal nerve endings in the tooth apex to provide pulpal anesthesia.

To date, two trials have been conducted to study the efficacy of mepivacaine and ropivacaine liposomal formulations in comparison to their respective plain solutions, in human pulpal anesthesia (Tófoli et al., 2008; Franz-Montan, 2009) with conflicting results. Tófoli et al. (2008) related increased anesthesia duration after liposomal mepivacaine maxillary infiltration, while Franz-Montan (2009) showed no improvement of liposomal ropivacaine formulation in the same anesthetic technique.

Considering the anesthesia success in the present study, liposomal and plain prilocaine did not differ in all the tested teeth, while prilocaine with felypressin provided higher anesthesia success than these formulations for canine and first premolar. Prilocaine with felypressin provided sustained anesthesia for at least 20 minutes in 70% of the volunteers, quickly decreasing to 38% at 30 minutes in the canine. The percentages of anesthetized canines for plain and liposomal prilocaine were 41% to 44%, respectively, at 20 minutes, decreasing to less than 15%.

Tófoli et al. (2008) reported an increase in duration of anesthesia from 24min for 3% mepivacaine to 32min for 3% liposomal mepivacaine after maxillary infiltration in the canine buccal fold. Prilocaine and mepivacaine have different physicochemical properties, which could explain the differences observed between the studies. Prilocaine presents lower membrane partition value (57) than mepivacaine (93), which results in lower percentage of liposomal encapsulation for prilocaine (12%) than for mepivacaine (18.4%) (Cereda et al., 2004; Cereda et al., 2006). This low encapsulation would not be sufficient to increase the success and duration of pulpal anesthesia. However, Franz-Montan et al. (2009) did not obtained significant results with liposomal ropivacaine and this local anesthetic presents higher percentage of encapsulation (24%) than prilocaine and mepivacaine (De Araújo et al., 2008).

The results of Franz-Montan et al. (2009) and others (Kennedy et al., 2001) show that ropivacaine demands an additive (usually a vasoconstrictor) to improve the anesthetic efficacy when used as infiltration injection in dentistry. Our results suggest that prilocaine also needs an associated vasoconstrictor to provide adequate duration of pulpal anesthesia after maxillary infiltration injection.

Mepivacaine presents higher vasodilating activity than prilocaine (Malamed, 2004), and ropivacaine has been related as having vasoconstrictor effect (Timponi et al., 2006; Tokinaga et al., 2007) especially at end arteries (Wienzek et al., 2007). Mepivacaine without vasoconstrictor is used in maxillary infiltration to provide 20 minutes of pulpal anesthesia (Malamed, 2004). Prilocaine in higher concentration (4%) and without vasoconstrictor can also be clinically used, inducing lower duration of pulpal anesthesia (10 to 15 minutes) after maxillary infiltration. It presents, however, increased efficacy when used in nerve blocks, such as the inferior alveolar nerve.

The higher efficacy of vasoconstrictor-containing local anesthetics was also evidenced by Tófoli et al. (2008) who observed higher duration of pulpal anesthesia for 2% mepivacaine associated with epinephrine than for 3% mepivacaine and liposomal mepivacaine at 2% and 3% concentration.

Vasoconstriction permits the local anesthetics to have an extended period of contact with periosteum, allowing a greater number of molecules to cross the periosteum and bone in order to reach the nerve fibers. Liposomes keep part of the molecules in the injected area, having no vasoactivity properties. The blood vessels are kept under the vasoactivity influence of the local anesthetic injected and some degree of vasodilation does occur. Once the liposome membranes are degraded, the encapsulated local anesthetics molecules show the same behavior of vasoconstrictor-free anesthetic solutions. Depending on the percentage of liposome encapsulation and the degree of vasodilating activity of the local anesthetic, the number of molecules released by liposomes may not be sufficient to increase the duration of pulpal anesthesia.

The anesthesia onset is influenced by the pH of the solution. In theory, the formulation with lower pH should result in a higher proportion of charged molecules that are unable to cross the axon membrane and reach the sodium channel, leading to a slower onset of anesthesia. In the present study, however, no differences regarding the onset of anesthesia were observed among the formulations (prilocaine/felypressin – pH=4.3; liposomal prilocaine – pH=6.5; plain prilocaine – pH=5.2), except for lateral incisor. The same profile was also observed for mepivacaine (Tófoli et al., 2008) and ropivacaine (Franz-Montan et al., 2009) after maxillary infiltration (canine buccal fold) of liposomal, plain and vasoconstrictor containing local anesthetic formulations. The pH ranges of anesthetic formulations used in these studies were similar to the ones observed in the present study. It is possible that the slow injection speed (1mL per minute) and the time for the first pulp testing (2 minutes after injection) could have provided sufficient time for anesthetic buffering by the tissues, inducing similar anesthesia onset among the tested formulations.

The slow injection could also explain the absence of differences among the formulations concerning injection pain, despite the differences in pH values. As shown by Collins et al. (1997) VAS scores above 3 should be considered as moderate pain. Thus, in the present study VAS scores ranged from mild to moderate pain. These results are in agreement with Meechan & Day (2002), who

found 50% of the volunteers reporting moderate pain after buccal infiltration of lidocaine with epinephrine. The range of VAS scores found in the present study is also similar to the ones observed by Tófoli et al. (2007).

This first evaluation of anesthetic efficacy of prilocaine encapsulated in unilamellar vesicles (400nm) in pulpal anesthesia, in humans, showed no advantages of this formulation over the commercial solution of prilocaine with felypressin, despite the improvement in anesthetic efficacy observed in animal studies (Cereda et al., 2004; Cereda et al., 2006).

Conclusion

Liposomal prilocaine presents similar anesthetic efficacy in relation to plain prilocaine and lower efficacy in comparison to prilocaine with felypressin in maxillary infiltration. Prilocaine does not seem to benefit from liposomal encapsulation.

Declaration of Interest

This study was financially supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP # 06/00121-9). P.M.W. Zago received a fellowship from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq #131843/2008-7).

References

- Boogaerts JG, Lafont ND, Declercq AG, Luo HC, Gravet ET, Bianchi JA, Legros FJ. (1994). Epidural administration of liposome-associated bupivacaine for the management of postsurgical pain: a first study. *J Clin Anesth*, 6:315-20.
- Brkovic B, Todorovic L, Stojic D. (2005). Comparison of clonidine and epinephrine in lidocaine anaesthesia for lower third molar surgery. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 34:401-6.

Brunetto PC, Ranali J, Ambrosano GM, de Oliveira PC, Groppo FC, Meechan JG, Volpato MC. (2008). Anesthetic efficacy of 3 volumes of lidocaine with epinephrine in maxillary infiltration anesthesia. *Anesth Prog*, 55(2):29-34.

Cereda CM, Brunetto GB, de Araujo DR, de Paula E. (2006). Liposomal formulations of prilocaine, lidocaine and mepivacaine prolong analgesic duration. *Can J Anaesth*, 53(11):1092-7.

Cereda CM, de Araujo DR, Brunetto GB, De Paula E. (2004). Liposomal prilocaine: preparation, characterization, and in vivo evaluation. *J Pharm Pharm Sci*, 7:235-40.

Cereda CMS, Tófoli GR, Brito-Junior RB, De Jesus MB, Fraceto LF, Groppo FC, Araújo DR, de Paula E. (2008). Stability and Local Toxicity Evaluation of a Liposomal Prilocaine Formulation. *J Liposome Res*, 18: 329-39.

Collins SL, Moore RA, McQuay HJ. (1997). The visual analogue pain intensity scale: what is moderate pain in millimetres? *Pain*, 72:95-7.

Costa CG, Silva Jr JCB, Tortamano IP, Rocha RG, Lomba PC. (2005). [Onset and duration of four different local anesthetics upon maxillary infiltration]. *Rev Assoc Paul Cir Dent*, 59:113-6. Portuguese.

de Araujo DR, Cereda CM, Brunetto GB, Pinto LM, Santana MH, de Paula E. (2004). Encapsulation of mepivacaine prolongs the analgesia provided by sciatic nerve blockade in mice. *Can J Anaesth*, 51:566-72.

de Araujo DR, Cereda CM, Brunetto GB, Vomero VU, Pierucci A, Neto HS, de Oliveira AL, Fraceto LF, Braga Ade F, de Paula E. (2008). Pharmacological and local toxicity studies of a liposomal formulation for the novel local anaesthetic ropivacaine. *J Pharm Pharmacol*, 60:1449-57.

de Paula E, Cereda CM, Tofoli GR, Franz-Montan M, Fraceto LF, de Araújo DR. Drug delivery systems for local anesthetics. (2010). *Recent Pat Drug Deliv Formul*, 4:23-34.

Donaldson D, James-Perdok L, Craig BJ, Derkson GD, Richardson AS. (1987). A comparison of Ultracaine DS (articaine HCl) and Citanest forte (prilocaine HCl) in maxillary infiltration and mandibular nerve block. *J Can Dent Assoc*, 53:38-42.

Franz-Montan M, Silva AL, Cogo K, Bergamaschi Cde C, Volpato MC, Ranali J, de Paula E, Groppo FC. (2007). Liposome-encapsulated ropivacaine for topical anesthesia of human oral mucosa. *Anesth Analg*, 104:1528-31.

Franz-Montan M. (2009). [Avaliação da eficácia anestésica e da concentração plasmática da ropivacaina encapsulada em lipossomas, em anestesia odontológica](http://libdigi.unicamp.br/document/?code=000439481). Tese de Doutorado – Departamento de Ciências Fisiológicas, Área de Farmacologia Anestesiologia e Terapêutica Medicamentosa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Universidade Estadual de Campinas. <http://libdigi.unicamp.br/document/?code=000439481>

Grant GJ, Barenholz Y, Bolotin EM, Bansinath M, Turndorf H, Piskoun B, Davidson EM. (2004). A novel liposomal bupivacaine formulation to produce ultralong-acting analgesia. *Anesthesiology*, 101:133-7.

Grant SA. (2002). The Holy Grail: long-acting local anaesthetics and liposomes. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, 16:345-52.

Hinkley AS, Reader A, Beck M, Meyers WJ. (1991). An evaluation of 4% prilocaine with 1:200,000 epinephrine and 2% mepivacaine with 1:20,000 levonordefrin compared with 2% lidocaine with 1:100,000 epinephrine for inferior alveolar nerve block. *Anesth Prog*, 38:84-9.

Kennedy M, Reader A, Beck M, Weaver J. Anesthetic efficacy of ropivacaine in maxillary anterior infiltration. (2001). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 91:406-12.

Lafont ND, Boogaerts JG, Legros FJ. (1994). Use of liposome-associated bupivacaine for the management of a chronic pain syndrome. *Anesth Analg*, 79(4):818.

Lafont ND, Legros FJ, Boogaerts JG. (1996) Use of liposome-associated bupivacaine in a cancer pain syndrome. *Anaesthesia*, 5:578-9.

Lemmer B, Wiemers R. (1989). Circadian changes in stimulus threshold and in the effect of a local anaesthetic drug in human teeth: studies with an electronic pulp tester. *Chronobiol Int*, 6:157-62.

Malamed SF. (2004). Handbook of local anesthesia. 5th ed. Saint Louis: Mosby Inc.

Malinovsky JM, Benhamou D, Alafandy M, Mussini JM, Coussaert C, Couarraze G, Pinaud M, Legros FJ. (1997). Neurotoxicological assessment after intracisternal injection of liposomal bupivacaine in rabbits. *Anesth Analg*, 85:1331-6.

McLean C, Reader A, Beck M, Meryers WJ. (1993). An evaluation of 4% prilocaine and 3% mepivacaine compared with 2% lidocaine (1:100,000 epinephrine) for inferior alveolar nerve block. *J Endod*, 19:146-50.

McClure HA, Rubin AP. (2005). Review of local anaesthetic agents. *Minerva Anesthesiol*, 71: 59-74.

Meechan JG, Day PF. (2002). A comparison of intraoral injection discomfort produced by plain and epinephrine-containing lidocaine local anesthetic solutions: a randomized, double-blind, split-mouth, volunteer investigation. *Anesth Prog*, 49:44-8.

Nordenram A, Danielsson K. (1990). Local anaesthesia in elderly patients. An experimental study of oral infiltration anesthesia. *Sweed Dent J*, 14: 19-24.

Petersen JK, Luck H, Kristensen F, Mikkelsen L. (1977). A comparison of four commonly used local analgesics. *Int J Oral Surg*, 6: 51-59.

Robaux S, Blunt C, Viel E, Cuvillon P, Nouguier P, Dautel G, Boileau S, Girard F, Bouaziz H. (2004). Tramadol added to 1.5% mepivacaine for axillary brachial plexus block improves postoperative analgesia dose-dependently. *Anesth Analg*, 98:1172-7.

Timponi CF, Oliveira NE, Arruda RM, Meyrelles SS, Vasquez EC. (2006). Effects of the local anaesthetic ropivacaine on vascular reactivity in the mouse perfused mesenteric arteries. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 98: 518-20.

Tokinaga Y, Ogawa K, Yu J, Kuriyama T, Minonishi T, Hatano Y. (2007). Mechanism of the ropivacaine-induced increase in intracellular Ca²⁺ concentration in rat aortic smooth muscle. *Acta Anaesthesiol Scand*, 51: 1155-60.

Tófoli GR, Cereda CMS, Groppo FC, Volpato MC, Franz-Montan M, Ranali J, De Paula E. (2008). Efficacy of Liposome-Encapsulated Mepivacaine for Infiltrative Anesthesia in Volunteers. 86th General Session and Exhibition of the International Association for Dental Research, Abstract 28. http://iadr.confex.com/iadr/2008Toronto/techprogram/abstract_107573.htm.

Tófoli GR, Ramacciato JC, Volpato MC, Meechan JG, Ranali J, Groppo FC. (2007). Anesthetic efficacy and pain induced by dental anesthesia: the influence of gender and menstrual cycle. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 103:e34-8.

Volpato MC, Ramacciato JC, Groppo FC, Ranali J. (2001). Avaliação clínica de três soluções anestésicas locais comerciais de prilocaína a 3% e felipressina 0,03UI. *Rev Assoc Paul Cir Dent*, 55:405-8.

Wienzek H, Freise H, Giesler I, Van Aken HK, Sielenkaemper AW. (2007). Altered blood flow in terminal vessels after local application of ropivacaine and prilocaine. *Reg Anesth Pain Med*, 32: 233-9.

CONCLUSÃO

A eficácia anestésica da prilocaina, em técnica infiltrativa, não foi alterada pela encapsulação em lipossomas, mantendo-se menor que a da formulação comercial, associada à felipressina. Desta forma, não há vantagem clínica nesse tipo de formulação.

REFERÊNCIAS

Andrade ED. Terapêutica medicamentosa em odontologia. 2.ed. São Paulo: Artes Médicas; 2006.

Aps C, Reynolds F. The effect of concentration on vasoactivity of bupivacaine and lignocaine. *Br J Anaesth*. 1976; 48(12):1171-4.

Boogaerts J, Declercq A, Lafont N, Benameur H, Akodad EM, Dupont JC, Legros FJ. Toxicity of bupivacaine encapsulated into liposomes and injected intravenously: comparison with plain solutions. *Anesth Analg*. 1993a; 76(3):553-5.

Boogaerts JG, Lafont ND, Luo H, Legros FJ. Plasma concentrations of bupivacaine after brachial plexus administration of liposome-associated and plain solutions to rabbits. *Can J Anaesth*. 1993b; 40(12):1201-4.

Bucalo BD, Mirikitani EJ, Moy RL. Comparison of skin anesthetic effect of liposomal lidocaine, nonliposomal lidocaine, and EMLA using 30-minute application time. *Dermatol Surg*. 1998; 24(5):537-41.

Carter EL, Coppola CA, Barsanti FA. A randomized, double-blind comparison of two topical anesthetic formulations prior to electrodesiccation of dermatosis papulosa nigra. *Dermatol Surg*. 2006; 32(1):1-6.

Eichenfield LF, Funk A, Fallon-Friedlander S, Cunningham BB. A clinical study to evaluate the efficacy of ELA-Max (4% liposomal lidocaine) as compared with eutectic mixture of local anesthetics cream for pain reduction of venipuncture in children. *Pediatrics*. 2002; 109: 1093-1099.

Fisher R, Hung O, Mezei M, Stewart R. Topical anaesthesia of intact skin: liposome-encapsulated tetracaine vs EMLA. *Br J Anaesth*. 1998; 81(6):972-3.

Fraceto LF, Pinto Lde M, Franzoni L, Braga AA, Spisni A, Schreier S, de Paula E. Spectroscopic evidence for a preferential location of lidocaine inside phospholipid bilayers. *Biophys Chem*. 2002; 99(3):229-43.

Friedman PM. Comparative study of the efficacy of four topical anesthetics. *Dermatol Surg*. 1999; 25(12):950-4.

Gesztez A, Mezei M. Topical anesthesia of the skin by liposome-encapsulated tetracaine. *Anesth Analg* 1988; 67: 1079-1081.

Grant GJ, Bansinath M. Liposomal delivery systems for local anesthetics. *Reg Anesth Pain Med*. 2001; 26(1):61-3.

Hung OR, Comeau L, Riley MR, Tan S, Whynot S, Mezei M. Comparative topical anaesthesia of EMLA and liposome-encapsulated tetracaine. *Can J Anaesth*. 1997; 44(7):707-11.

Kuzma PJ, Kline MD, Calkins MD, Staats PS. Progress in the development of ultra-long-acting local anesthetics. *Reg Anesth*. 1997; 22(6):543-51.

Langerman L, Grant GJ, Zakowski M, Golomb E, Ramanathan S, Turndorf H. Prolongation of epidural anesthesia using a lipid drug carrier with procaine, lidocaine, and tetracaine. *Anesth Analg*. 1992; 75(6):900-5.

Mowat JJ, Mok MJ, MacLeod BA, Madden TD. Liposomal bupivacaine. Extended duration nerve blockade using large unilamellar vesicles that exhibit a proton gradient. *Anesthesiology*. 1996; 85(3):635-43.

Parnham MJ, Wetzig H. Toxicity screening of liposomes. *Chem Phys Lipids*. 1993;64(1-3):263-74.

Pinto LM, Pereira R, de Paula E, de Nucci G, Santana MH, Donato JL. Influence of liposomal local anesthetics on platelet aggregation in vitro. *J Liposome Res*. 2004; 14(1-2):51-9.

Pinto LM, Yokaichiya DK, Fraceto LF, de Paula E. Interaction of benzocaine with model membranes. *Biophys Chem*. 2000 ;87(2-3):213-23.

Ranade VV. Drug delivery systems. 1. site-specific drug delivery using liposomes as carriers. *J Clin Pharmacol*. 1989; 29(8):685-94.

Sharata HH, Katz KH. Liposomes. *Int J Dermat*. 1996; 35: 761-769.

Stensrud G, Passi S, Larsen T, Sandset PM, Smistad G, Monkkonen J, Karlsen J. Toxicity of gamma irradiated liposomes. 1. In vitro interactions with blood components. *Int J Pharm*. 1999; 178(1):33-46.

Yoshihara E, Nakae T. Cytolytic activity of liposomes containing stearylamine. *Biochim Biophys Acta*. 1986; 854(1):93-101.

Yu HY, Li SD, Sun P. Kinetic and dynamic studies of liposomal bupivacaine and bupivacaine solution after subcutaneous injection in rats. *J Pharm Pharmacol*. 2002; 54(9):1221-7.

Zed CM, Epstein J, Donaldson D. Topical liposome encapsulated tetracaine versus benzocaine: a clinical investigation. *J Dent Res* 1996; 75:247.

ANEXO 1

INFORMAÇÃO CCPG/002/06

Tendo em vista a necessidade de revisão da regulamentação das normas sobre o formato e a impressão das dissertações de mestrado e teses de doutorado e com base no entendimento exarado no Parecer PG nº 1985/96, que trata da possibilidade do formato alternativo ao já estabelecido, a CCPG resolve:

Artigo 1º - O formato padrão das dissertações e teses de mestrado e doutorado da UNICAMP deverão obrigatoriamente conter:

- I. Capa com formato único ou em formato alternativo que deverá conter informações relativas ao nível (mestrado ou doutorado) e à Unidade de defesa, fazendo referência à Universidade Estadual de Campinas, sendo o projeto gráfico das capas definido pela PRPG.
- II. Primeira folha interna dando visibilidade à Universidade, a Unidade de defesa, ao nome do autor, ao título do trabalho, ao número de volumes (quando houver mais de um), ao nível (mestrado ou doutorado), a área de concentração, ao nome do orientador e co-orientador, ao local (cidade) e ao ano de depósito. No seu verso deve constar a ficha catalográfica.
- III. Folha de aprovação, dando visibilidade à Comissão Julgadora com as respectivas assinaturas.
- IV. Resumo em português e em inglês (ambos com no máximo 500 palavras).
- V. Sumário.
- VI. Corpo da dissertação ou tese dividido em tópicos estruturados de modo característico à área de conhecimento.
- VII. Referências, formatadas segundo normas de referenciamento definidas pela CPG da Unidade ou por critério do orientador.
- VIII. Todas as páginas deverão, obrigatoriamente, ser numeradas, inclusive páginas iniciais, divisões de capítulos, encartes, anexos, etc... As páginas iniciais poderão ser numeradas utilizando-se algarismos romanos em sua forma minúscula.
- IX. Todas as páginas com numeração "impar" serão impressas como "frente" e todas as páginas com numeração "par" serão impressas como "verso".

§ 1º - A critério do autor e do orientador poderão ser incluídos: dedicatória; agradecimento; epígrafe; lista de: ilustrações, tabelas, abreviaturas e siglas, símbolos; glossário; apêndice; anexos.

§ 2º - A dissertação ou tese deverá ser apresentada na língua portuguesa, com exceção da possibilidade permitida no artigo 2º desta Informação.

§ 3º - As dissertações e teses cujo conteúdo versar sobre pesquisa envolvendo seres humanos, animais ou biossegurança, deverão apresentar anexos os respectivos documentos de aprovação.

Artigo 2º - A critério do orientador e com aprovação da CPG da Unidade, os capítulos e os apêndices poderão conter cópias de artigos de autoria ou de co-autoria do candidato, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas ou anais de congressos sujeitos a arbitragem, escritos no idioma exigido pelo veículo de divulgação.

§ único - O orientador e o candidato deverão verificar junto às editoras a possibilidade de inclusão dos artigos na dissertação ou tese, em atendimento à legislação que rege o direito autoral, obtendo, se necessária, a competente autorização, deverão assinar declaração de que não estão infringindo o direito autoral transferido à editora.

Artigo 3º - Dependendo da área do conhecimento, a critério do orientador e com aprovação da CPG da Unidade, a dissertação ou tese poderá ser apresentada em formato alternativo, desde que observados os incisos I, II, III, IV, V e VII do artigo 1º.

Artigo 4º - Para impressão, na gráfica da Unicamp, dos exemplares definitivos de dissertações e teses defendidas, deverão ser adotados os seguintes procedimentos:

§ 1º - A solicitação para impressão dos exemplares de dissertações e teses poderá ser encaminhada à gráfica da Unicamp pelas Unidades, que se responsabilizarão pelo pagamento correspondente.

§ 2º - Um original da dissertação ou tese, em versão definitiva, impresso em folha tamanho carta, em uma só face, deve ser encaminhado à gráfica da Unicamp acompanhado do formulário "Requisição de Serviços Gráficos", onde conste o número de exemplares solicitados.

§ 3º - A gráfica da Unicamp imprimirá os exemplares solicitados com capa padrão. Os exemplares solicitados serão retirados pelas Unidades em no máximo, cinco dias úteis para impressão preto e branco e 10 dias úteis para coloridas.

§ 4º - No formulário "Requisição de Serviços Gráficos" deverão estar indicadas as páginas cuja reprodução deva ser feita no padrão "cores" ou "foto", ficando entendido que as demais páginas devam ser reproduzidas no padrão preto/branco comum.

§ 5º - As dissertações e teses serão reproduzidas no padrão frente e verso, exceção feita às páginas iniciais e divisões de capítulos; dissertações e teses com até 100 páginas serão reproduzidas no padrão apenas frente, exceção feita à página que contém a ficha catalográfica.

§ 6º - As páginas fornecidas para inserção deverão ser impressas em sua forma definitiva, ou seja, apenas frente ou frente/verso.

§ 7º - O custo, em reais, de cada exemplar produzido pela gráfica será definido pela Administração Superior da Universidade.

Artigo 5º - É obrigatória a entrega de dois exemplares para homologação.

Artigo 6º - Esta Informação entrará em vigor na data de sua publicação, ficando revogadas as disposições em contrário, principalmente as Informações CCPG 001 e 002/98 e CCPG/001/00.

Campinas, 13 de setembro de 2006

ANEXO 2

Comprovante de submissão do artigo.

Journal of
Liposome Research

informa
healthcare

Edit Account | Instructions & Forms | Log Out | [Get Help Now](#)

SCHOLARONE™
Manuscripts

[Main Menu](#) → [Author Dashboard](#) → Submission Confirmation

You are logged in as F

Submission Confirmation

Thank you for submitting your manuscript to *Journal of Liposome Research*.

Manuscript ID: LLPR-2009-0103

Title: ANESTHETIC EFFICACY OF LIPOSOMAL PRILOCAINE IN MAXILLARY INFILTRATION ANESTHESIA

Authors: Zago, Patricia
Baroni, Daniela
Groppo, Francisco
de Paula, Eneida
Ranali, Jose
Volpato, Maria Cristina

Date Submitted: 31-Dec-2009

 Print  Return to Dashboard

ScholarOne Manuscripts™ v4.2.1 (patent #7,257,767 and #7,263,655). © ScholarOne, Inc., 2009. All Rights Reserved.
ScholarOne Manuscripts is a trademark of ScholarOne, Inc. ScholarOne is a registered trademark of ScholarOne, Inc.
[Terms and Conditions of Use](#) - [ScholarOne Privacy Policy](#) - [Get Help Now](#)

ANEXO 3

RE: Subscription information

De:  **Hall, Cleo** (Cleo.Hall@informa.com)
Enviada: terça-feira, 22 de dezembro de 2009 15:29:59
Para: Patricia Zago (patizago@hotmail.com)

Dear Ms Zago

Thanks for clarifying the situation with regards to your university repository. Provided that your manuscript is only deposited in your university library and not commercially available, it will not be a problem to submit to *Journal of Liposome Research*.

Kind regards

Cleo

From: Patricia Zago [mailto:patizago@hotmail.com]
Sent: 16 December 2009 13:23
To: Hall, Cleo
Subject: RE: Subscription information

Good morning,

I am very grateful for your reply.

I am sorry because I was not clear when I mentioned that I would like to publish my thesis at Journal of Liposome Research. My thesis will be printed by the university. It will be able for reading at university's library and it will have free online access at university's internet site. Is this a problem for submitting it (my thesis) at Journal of Liposome Research?

Thank you for all attention,

best regards,

Patricia Zago

*Patricia Zago
Mestranda em Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica -
Departamento de Ciências Fisiológicas
Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Caixa Postal nº 52
Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP
13414-903, Piracicaba, SP, Brasil
Tel.: (19) 2106-5308 - Fax.: (19) 3421-0144*

ANEXO 4

Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba/Unicamp.



**COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE
PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**



CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa **"Atividade anestésica de formulações lipossomais de anestésicos locais à base de prilocaína, lidocaína, mepivacaína, ropivacaína e benzocaina em Odontologia"**, protocolo nº 062/2004, dos pesquisadores Francisco Carlos Groppo, Andre Luis Rotolo Silva, Cíntia Maria Saia Cereda, Eneida de Paula, Filipe Polese Branco, Giovana Radomille Tófoli, José Ranali, Juliana Cama Ramacciato, Maria Cristina Volpato, Michelle Franz Montan e Patricia Maria Wiziack Zago, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 26/11/2009.

The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project **"Anesthetic activity of prilocaine, lidocaine, mepivacaine, ropivacaine and benzocaine in lipossomal formulations in Dentistry"**, register number 062/2004, of Francisco Carlos Groppo, Andre Luis Rotolo Silva, Cíntia Maria Saia Cereda, Eneida de Paula, Filipe Polese Branco, Giovana Radomille Tófoli, José Ranali, Juliana Cama Ramacciato, Maria Cristina Volpato, Michelle Franz Montan and Patricia Maria Wiziack Zago, comply with the recommendations of the National Health Council - Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at .

Prof. Dr. Pablo Agustin Vargas
Secretário
CEP/FOP/UNICAMP

Prof. Dr. Jacks Jorge Junior
Coordenador
CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição.
Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.