



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Trabalho de Conclusão de Curso

Aluno(a): Tais Munhoz Andrade

Orientador(a): Maria Cristina Volpato

Ano de Conclusão do Curso: 2011



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



**“EFICÁCIA ANESTÉSICA DA PREPARAÇÃO
LIPOSSOMAL DE MEPIVACAÍNA EM BLOQUEIO DO
NERVO ALVEOLAR INFERIOR EM RATOS”**

Tais Munhoz Andrade

Piracicaba - 2011

Tais Munhoz Andrade

**“EFICÁCIA ANESTÉSICA DA PREPARAÇÃO
LIPOSSOMAL DE MEPIVACAÍNA EM BLOQUEIO DO
NERVO ALVEOLAR INFERIOR EM RATOS”**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Odontologia da
Faculdade de Odontologia de Piracicaba –
UNICAMP, para obtenção do Diploma de
Cirurgião Dentista.

Orientadora: Maria Cristina Volpato

Piracicaba – 2011

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Marilene Girello - CRB 8/6159

An24e Andrade, Tais Munhoz, 1988-
Eficácia anestésica da preparação lipossomal de mepivacaína em bloqueio do nervo alveolar inferior em ratos / Tais Munhoz Andrade. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2011.

Orientador: Maria Cristina Volpato.
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Anestesia dentária. 2. Mandíbula. I. Volpato, Maria Cristina, 1962- II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Dedico esse trabalho ao meu pai que sempre sonhou com a minha formação e fez de tudo enquanto vivo para esse momento, dedico também a minha mãe que sempre esteve do meu lado e fez com que esse sonho se realizasse.

AGRADECIMENTOS

A minha família, principalmente aos meus pais(Eliana e Márcio) que me apoiaram muito.

Aos meus amigos, aqueles que sempre me estenderam a mão quando eu mais precisei de apoio.

Aos meus professores que me acrescentaram o conteúdo necessário para a pratica, e principalmente a Maria Cristina Volpato que me orientou no trabalho e me ensinou a melhor técnica anestesica.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de Bolsa de Iniciação Cientifica, indispensável para realização deste projeto.

RESUMO

Foi demonstrado, em infiltração maxilar em humanos, que a mepivacaína encapsulada em lipossomas aumenta o tempo de anestesia pulpar e em tecidos moles em comparação com a solução sem aditivos. Este estudo teve como objetivo avaliar a eficácia anestésica de quatro formulações injetáveis de mepivacaína, em modelo de bloqueio do nervo alveolar inferior em ratos. Quarenta ratos Wistar adultos jovens foram divididos aleatoriamente em 4 grupos com 10 animais cada, os quais receberam injeção de 0,2mL, para bloqueio do nervo alveolar inferior do lado direito, de uma das seguintes formulações: mepivacaina 2% com epinefrina 1:100.000, mepivacaina 3%, suspensão lipossomal de mepivacaína 2% e suspensão lipossomal de mepivacaína 3%. Os lados contra-laterais receberam o respectivo controle (solução de NaCl 0,9% e suspensão lipossomal). Previamente à injeção, os animais foram submetidos a anestesia geral com ketamina e xilazina, sendo fixado um fio de cobre aos molares inferiores dos animais a fim de permitir a aplicação dos estímulos elétricos para avaliação da anestesia. Após sedação dos animais com diazepam e estando os mesmos responsivos a estímulos dolorosos, as formulações foram aplicadas e, após dois minutos, iniciou-se a avaliação da anestesia. Foram avaliados sucesso, latência e duração da anestesia pulpar. Os resultados foram avaliados pelos testes de Kruskal-Wallis e teste G ($\alpha=0,05$). Não houve diferença entre os grupos ($p>0,05$) com relação à duração da anestesia. A solução de mepivacaína com epinefrina apresentou maior sucesso de anestesia do que a solução de mepivacaína 3% no tempo de 10 minutos e essas duas formulações apresentaram maior taxa de sucesso que a formulação lipossomal de mepivacaina 2% no tempo de 25 minutos. A solução de mepivacaína 3% apresentou maior latência que as demais. Concluiu-se que a formulação lipossomal de mepivacaína a 3% apresenta eficácia anestésica semelhante à solução comercial de mepivacaína 2% com epinefrina e mepivacaína 3% em bloqueio do nervo alveolar inferior em ratos, enquanto que a formulação lipossomal de mepivacaína 2% é menos eficaz que essas.

PALAVRAS-CHAVE: Mepivacaína; Nervo Alveolar Inferior; Anestesia Dentária, Mandíbula.

ABSTRACT

Liposomal encapsulation of mepivacaine has been shown to increase pulpal and soft tissue anesthesia duration after maxillary infiltration in humans, when compared to additive free formulations. The objective of this study was to evaluate four mepivacaine formulations in a model of inferior alveolar nerve block in rats. Forty Wistar male adult rats were randomly divided in 4 groups (10 rats/group) which received 0.2mL of the following formulations as an inferior alveolar nerve block at the right side: 2% mepivacaine with 1;100,000 epinephrine, 3% mepivacaine, 2% liposomal mepivacaine and 3% liposomal mepivacaine. The contralateral sides received the respective controls (0.9% NaCl solution and liposomal suspension). Previously to the injection the animals were submitted to general anesthesia with Ketamin and xylasin and a copper wire was fixed to the mandibular molars in order to allow local anesthesia evaluation by electric stimulus application. After sedation with diazepam and being the animals responsive to painful stimulus, the formulations were injected and after two minutes the anesthetic efficacy evaluation was initiated. The parameters evaluated were anesthesia success, onset and duration. Data were submitted to Kruskal-Wallis and G tests ($\alpha=0.05$). No difference among the groups were observed in relation to anesthesia duration. The 2% mepivacaine with epinephrine solution presented higher anesthesia success than 3% mepivacaine at 10min; these two formulations presented higher anesthesia success than 2% liposomal mepivacaine at 25min. The solution of 3% mepivacaine presented higher onset of anesthesia than the others. It can be concluded that the 3% liposomal mepivacaine presents anesthetic efficacy similar to that presented by 2% mepivacaine with epinephrine and 3% mepivacaine in the inferior alveolar nerve block model in rats, whereas 2% liposomal mepivacaine presents lower efficacy.

KEYWORDS: Mepivacaine; Inferior Alveolar Nerve; Dental Anesthesia; Mandible.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
3. PROPOSIÇÃO.....	4
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	5
4.1 Animais.....	5
4.2. Material.....	5
4.2.1. Preparação das suspensões lipossomais.....	6
4.3. Procedimento experimental.....	7
4.3.1. Técnica de bloqueio do nervo alveolar inferior (NAI).....	8
4.3.2. Avaliação dos parâmetros da anestesia.....	9
4.4. Análise estatística.....	10
5. RESULTADOS.....	11
6. DISCUSSÃO.....	14
7. CONCLUSÃO.....	16
REFERÊNCIAS	17
ANEXOS.....	19
Anexo 1. Certificado da Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEa/Unicamp).....	19
Anexo 2. Aprovação do Relatório Final do Projeto de Iniciação Científica – Bolsa PIBIC/CNPq.....	20

1. INTRODUÇÃO

A anestesia local, em medicina e em odontologia, tem procurado por compostos que apresentem maior eficácia e menor toxicidade, tanto local, quanto sistêmica.

Nesse campo tem sido pesquisados novos compostos, bem como aditivos que permitam melhorar as características dos sais anestésicos já em uso. Vários tipos de aditivos têm sido propostos, entre os quais se situam os lipossomas e as ciclodextrinas.

Alguns estudos têm demonstrado aumento da eficácia anestésica com esses aditivos, especialmente em tecido mole, mas pouco se conhece a respeito da efetividade na anestesia pulpar.

Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar a mepivacaína, anestésico local de duração intermediária, quando encapsulado em lipossomas, no modelo animal de bloqueio do nervo alveolar inferior, o qual permite a avaliação da anestesia pulpar.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Os anestésicos locais apresentam ampla aplicação na clínica médica e odontológica, constituindo o grupo de medicamentos mais empregados em odontologia. Apesar da grande segurança no seu uso, especialmente nas doses usadas em odontologia, vários estudos estão sendo desenvolvidos com o intuito de obter anestesia mais prolongada, com menor toxicidade, o que resultaria em maior controle da dor pós-operatória, em medicina e odontologia, e ainda em pacientes em estado terminal.

Dentre os métodos de liberação prolongada de drogas que estão sendo estudados, destaca-se a encapsulação de substâncias em lipossomas, vesículas de 50nm a 1000nm de diâmetro, formadas pela interação de lipídeos suspensos em uma fase aquosa (Banerjee, 2001; Grant, 2002). Essas vesículas são formadas por uma ou mais bicamadas de lipídeos, constituindo os lipossomas uni ou multilamelares (Grant, 2002).

Pela sua constituição semelhante à das membranas biológicas, sendo compostos por fosfatidilcolina e colesterol, os lipossomas são biocompatíveis, biodegradáveis e têm reduzido risco de toxicidade, antigenicidade, imunogenicidade e lesões histológicas (Malinovsky et al., 1997; Grant, 2002).

A eficácia da encapsulação de anestésicos em lipossomas tem sido demonstrada em vários estudos ((Boogaerts et al. 1994; Lafont et al. 1996; Grant et al. 2004; Cereda et al., 2006; Franz-Montan et al., 2007; Franz-Montan et al., 2010; Tofoli et al. 2011), incluindo a recente publicação da encapsulação da saxitocina em lipossomas (Epstein-Barash et al, 2009), demonstrando aumento da duração do efeito anestésico e redução da toxicidade.

A eficácia anestésica da mepivacaína, anestésico local do tipo amida, com duração de ação intermediária, também já foi comprovada em tecido mole em modelo animal de bloqueio do nervo infraorbital (Cereda et al., 2006) e na polpa dental em voluntários humanos, após anestesia infiltrativa na maxila (Tofoli et al. 2011). Neste último estudo foi demonstrado que a formulação lipossomal de mepivacaína 3% aumentou o tempo de anestesia pulpar quando comparada à solução de mepivacaína 3% e à mepivacaína 2% lipossomal, não havendo diferenças entre estas últimas. Entretanto, os resultados de anestesia pulpar obtidos

com técnica infiltrativa nem sempre são equivalentes ao que se obtém após um bloqueio.

A partir desses resultados positivos obtidos com a mepivacaína lipossomal e do desenvolvimento de um modelo experimental, em animal, de bloqueio do nervo alveolar inferior em animais (Silva et al., 2009), foi delineado o presente estudo.

3. PROPOSIÇÃO

Este estudo teve como objetivo avaliar a eficácia de duas formulações lipossomais de mepivacaína 2% e 3% comparando-as com as soluções soluções comerciais de mepivacaina 3% e mepivacaina 2% com epinefrina 1:100.000.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste estudo foi concedida bolsa de Iniciação Científica PIBIC/CNPq (Anexo 1). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) do Instituto de Biologia (IB) da UNICAMP sob no 1842-1 (Anexo 2).

4.1. ANIMAIS

Foram utilizados 40 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar), adultos, machos, provenientes do CEMIB-UNICAMP, os quais foram mantidos no biotério da FOP/UNICAMP em ambiente com temperatura controlada, ciclos claro-escuro de 12/12h e com água e comida ad libitum. Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos com 10 animais cada, os quais receberam, injeção de 0,2mL de formulação anestésica, próximo ao forame mandibular, para bloqueio do nervo alveolar inferior. As injeções das formulações teste foram feitas no lado direito e cada grupo de animais recebeu uma das seguintes formulações anestésicas:

- mepivacaína 2% com epinefrina 1:100.000 (solução comercial);
- mepivacaína 3% (solução comercial);
- mepivacaína 2% lipossomal;
- mepivacaína 3% lipossomal.

O lado esquerdo funcionou como controle, sendo injetado no mesmo o veículo das formulações, solução de NaCl 0,9% ou formulação lipossomal, pela mesma técnica. A fim de permitir o cegamento do experimento, as avaliações da anestesia foram realizadas por pesquisador não envolvido nas injeções e sem conhecimento a respeito do código das formulações.

4.2. MATERIAL

Para a realização deste estudo foram utilizadas as seguintes formulações utilizadas: solução comercial de mepivacaína 2% com epinefrina 1:100.000 (Mepiadre®, DFL Ind. Com. Ltda, Rio de Janeiro, RJ), solução comercial de

mepivacaina 3% (Mepisv®, DFL Ind. Com. Ltda, Rio de Janeiro, RJ) e suspensões lipossomais de mepivacaína 2% e 3%. Para a preparação das formulações lipossomais de mepivacaina foram utilizados: cloridrato de mepivacaína (Sigma), acetato de α -tocoferol, fosfatidilcolina de ovo e colesterol (Sigma Chem. Co.) e tampão HEPES 20mM com NaCl 0,9% (Q-biogene). A metodologia da preparação das formulações lipossomais está descrita a seguir. Para a anestesia geral dos animais foram utilizados ketamina (Dopalen®) e xilazina (Rompun®), e para sedação diazepam (Valium® injetável 10mg/2mL, Roche, Quim. Farm. SA).

Para a injeção das formulações anestésicas e para a anestesia com xilazina/ketamina foram utilizadas, respectivamente, seringas centesimais de 1mL (BD®) acopladas a agulhas descartáveis de 1 polegada (BD 30G) e 13 X 4,5 (BD PrecisionGlide® - 26G – 1/2”).

A avaliação da anestesia pulpar foi realizada com a aplicação de estímulos elétricos, emitidos pelo aparelho “pulp tester” (Vitality Scanner modelo 2006 - Analytic Technology, Redmond, EUA).

4.2.1. Preparação das suspensões lipossomais

As suspensões lipossomais foram preparadas no laboratório de Biomembranas do Instituto de Biologia da UNICAMP, sob orientação da Profa. Dra. Eneida de Paula. Inicialmente foram preparadas vesículas multilamelares pelo método de hidratação de filme seco retirando-se alíquotas de fosfatidilcolina de ovo, colesterol e α -tocoferol (na proporção molar de 4:3:0,07) de uma solução estoque em clorofórmio e evaporando-se sob fluxo de N₂ seguido de vácuo por 2h, à temperatura ambiente (Boogaerts et al., 1993 a,b; Fraceto et al., 2002). Após a secagem foi adicionado o tampão HEPES 20mM, pH 7,4 com NaCl 154 mM, sendo a dispersão agitada por 5 minutos em vórtex, passando a apresentar vesículas multilamelares concêntricas, separadas por cavidades aquosas.

A seguir, as vesículas lipossomais unilamelares de 0,4 μ m foram obtidas por extrusão das vesículas multilamelares já descritas (Extrusor Lipex Biomembranes Inc.). Assim, sob pressão de nitrogênio, à temperatura ambiente, a amostra de vesículas multilamelares foi injetada através de um disco de drenagem em duas membranas de policarbonato (Poretics) com poros de tamanho pré-determinado

(0,4 μ m), por 12 vezes. Os lipossomas foram mantidos em repouso por 2h, para o intumescimento das vesículas. A concentração lipídica dos lipossomas foi de 4mM.

Após a preparação das vesículas foi incorporado o anestésico local cloridrato de mepivacaína para as concentrações de 2% e 3%. As formulações foram preparadas em câmara de fluxo laminar (com materiais e soluções autoclavados a 1 atm e 121°C, por 20 min.) e após o preparo foram esterilizadas em autoclave (Cereda et al., 2006).

4.3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Para permitir a aplicação de estímulos elétricos à polpa dos molares inferiores e assim conseguir avaliar os parâmetros da anestesia, primeiramente os animais foram submetidos à fixação de fios de cobre à superfície oclusal. Para isso, os animais foram submetidos à anestesia geral com xilazina (10mg/kg) e Ketamina (90mg/kg) administrados por via intramuscular. A fixação dos fios de cobre foi realizada com uso de resina fotopolimerizável. Os fios de cobre apresentavam apenas as pontas desencapadas (uma em contato direto com a oclusal dos molares e recoberta com a resina e outra distante do animal, onde foram aplicados os estímulos elétricos).

Em seguida, após o retorno da anestesia geral, os animais foram sedados com diazepam (20mg/kg) por via intraperitoneal. Este procedimento foi necessário para manter o animal responsivo a estímulos dolorosos (como a preensão da cauda), porém sem movimentação, permitindo assim melhor avaliação das reações do animal à percepção de dor decorrentes da aplicação do estímulo elétrico.

Após obtenção da sedação do animal e constatação da responsividade ao teste de preensão da cauda, foi avaliado o limiar basal de resposta pulpar dos mesmos ao estímulo elétrico com uso do *pulp tester*. A aplicação do estímulo foi feita na extremidade do fio externa à cavidade bucal do animal. Para esta medida foi considerada a média de três mensurações de cada lado.

Posteriormente a esse procedimento, foram aplicados 0,2 mL de uma das formulações anestésicas no lado direito, próximo ao forame mandibular dos animais para bloqueio do nervo alveolar inferior. O lado oposto recebeu o mesmo volume do

controle. Após a injeção, os estímulos elétricos foram aplicados a cada 2 minutos durante os primeiros 15 minutos, com o objetivo de avaliar a latência das formulações. Os animais que apresentaram resposta aversiva ao estímulo elétrico (movimentação), após esse período, no lado em que foi injetada preparação anestésica foram considerados como insucesso da anestesia. Os animais que apresentaram ausência de resposta aversiva ao estímulo máximo emitido pelo *pulp tester* continuaram a ser avaliados, recebendo a aplicação de estímulo elétrico a cada 5 minutos até que o animal apresentasse resposta aversiva quando o estímulo elétrico era aplicado no lado direito (lado teste). O intervalo de tempo, de 2 minutos, para avaliação da latência foi determinado em função do período refratário da fibra nervosa, o que não permite que o teste elétrico seja feito de forma ininterrupta.

O *pulp tester* utilizado emite intensidade de corrente elétrica de 0 a 80 μ A, a qual aumenta de forma gradual. A corrente aplicada sobre a coroa dental vence a resistência do esmalte e dentina, passando a estimular as fibras sensoriais mielinizadas de condução rápida na junção dentina-polpa, estimulando as fibras sensoriais pulpares (Certosimo & Archer, 1996). A percepção do estímulo (dor) é caracterizada por movimento repetitivo de elevação da cabeça ou ainda de coçar a cabeça e movimentação das vibríças pelo animal. No momento em que o animal apresentava um desses sinais, o pesquisador avaliador desconectava o eletrodo do *pulp tester* do fio de cobre acoplado ao dente do animal (Silva et al., 2009).

4.3.1. Técnica de bloqueio do nervo alveolar inferior (NAI)

A técnica anestésica utilizada neste estudo foi a desenvolvida por Silva et al. (2009) para bloqueio do nervo alveolar inferior em ratos. Nesta técnica a introdução da agulha é feita a partir da base da mandíbula, na sua face interna, na região do ângulo mandibular. Introduz-se cerca de 13mm de uma agulha 13x4,5 pela face interna da mandíbula, formando um ângulo de 90° com a base da mandíbula, tangenciando o ramo mandibular até à posição final de injeção, próximo ao forame mandibular, onde a solução é depositada. A posição da agulha nessa técnica é mostrada na Figura 1.



Figura 1. Posição da agulha na técnica de bloqueio do nervo alveolar inferior em ratos.

4.3.2. Avaliação dos parâmetros da anestesia

A eficácia das formulações foi avaliada com base nos parâmetros de latência, duração e grau de sucesso da anestesia calculados após a aplicação de estímulo elétrico aos dentes.

Os parâmetros latência, duração e sucesso da anestesia foram assim considerados:

- Tempo de latência: intervalo de tempo entre o final da injeção da solução anestésica e o início de ausência de resposta ao teste elétrico.
- Duração da anestesia: tempo entre o início da anestesia e o tempo imediatamente anterior ao de obtenção de duas respostas aversivas consecutivas, ou seja, intervalo de tempo no qual o animal não apresenta resposta ao estímulo elétrico máximo emitido pelo aparelho.
- Sucesso da anestesia: foi considerado quando o animal apresentou latência de no máximo 10 minutos e permaneceu anestesiado por pelo menos 10 minutos.

4.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos aos testes de Kruskal-Wallis e G, com nível de significância 5%, sendo utilizado o pacote estatístico BioEstat 5.0 (Instituto Mamirauá, Belém, PA).

5. RESULTADOS

Os resultados de sucesso da anestesia são mostrados na Figura 2. A solução de mepivacaína 2% com epinefrina 1:100.000 apresentou maior taxa de sucesso de anestesia que a mepivacaína 3% no tempo de 10 minutos. A formulação de mepivacaína 2% lipossomal apresentou menor sucesso de anestesia ($p<0,05$) que as formulações de mepivacaína 2% com epinefrina 1:100.000 e mepivacaína 3%, no tempo de 25 minutos. Em todos os grupos não foi observada anestesia (ausência de resposta ao estímulo elétrico) no lado controle.

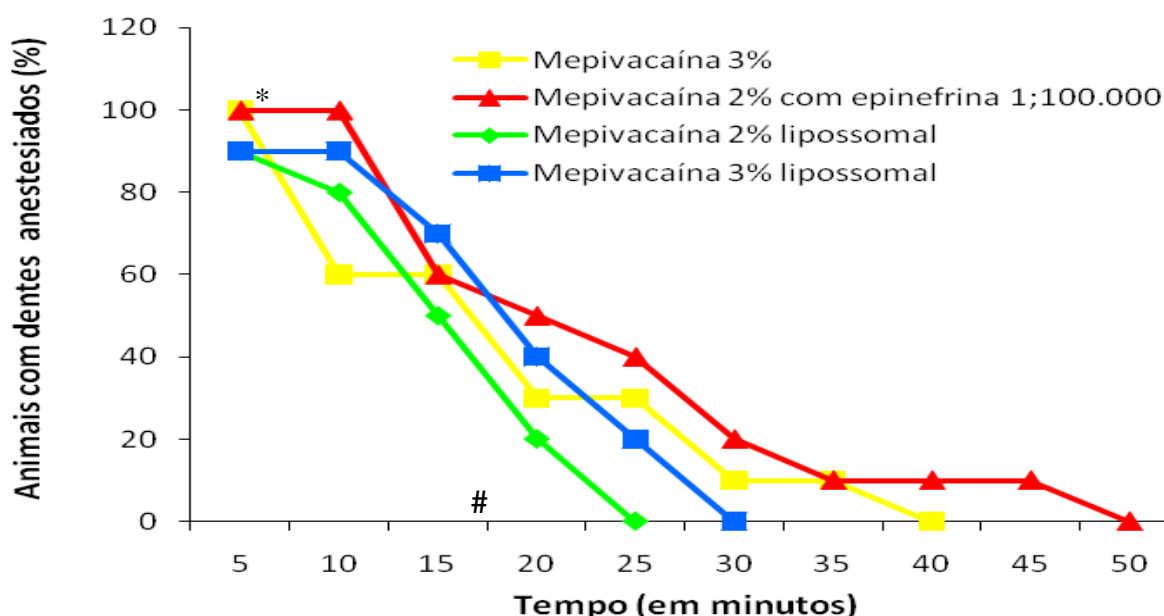


Figura 2. Sucesso da anestesia (% de animais com dentes anestesiados) em relação ao tempo (em minutos), após bloqueio do nervo alveolar inferior em ratos com formulações a base de mepivacaína. (* $p<0,05$ em relação ao grupo mepivacaína 3%; # $p<0,05$ em relação aos grupos mepivacaína 2% com epinefrina 1:100.000 e mepivacaína 3%).

Os resultados de latência da anestesia nos molares inferiores dos animais (expressos como mediana e desvio interquartílico, em minutos) estão na Figura 3. A solução de mepivacaína 3% apresentou tempo de latência maior que as demais formulações ($p<0,05$).

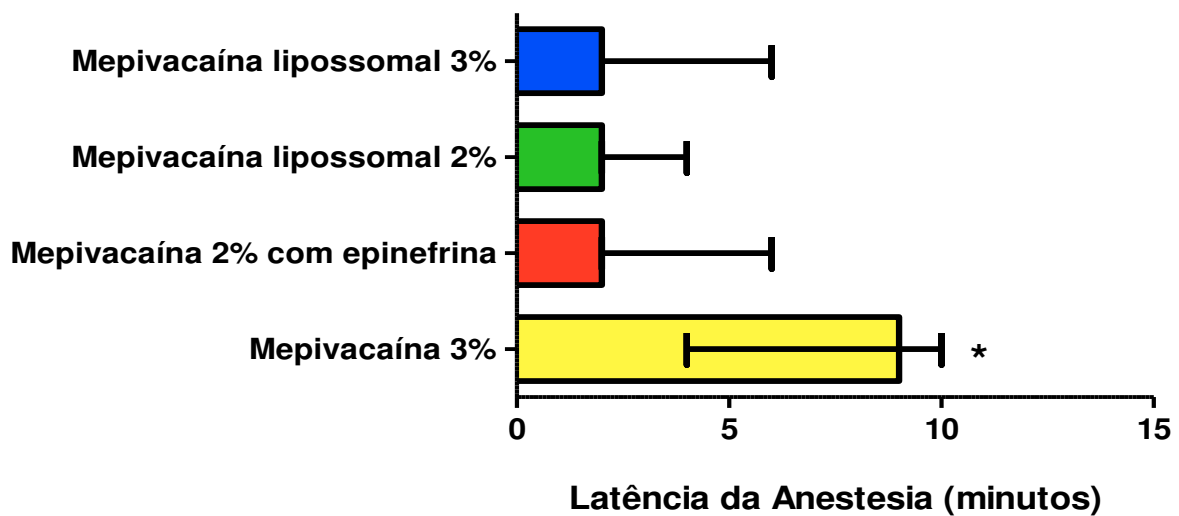


Figura 3. Latência da anestesia (mediana e desvio interquartilico, em minutos) nos molares inferiores após bloqueio do nervo alveolar inferior de ratos com formulações de mepivacaína. (* $p < 0,05$ em relação aos demais grupos)

A Figura 4 mostra os resultados de duração da anestesia (expressos como mediana e desvio interquartilico) nos molares inferiores dos animais. Não foram observadas diferenças entre as formulações ($p > 0,05$) com relação à duração da anestesia.

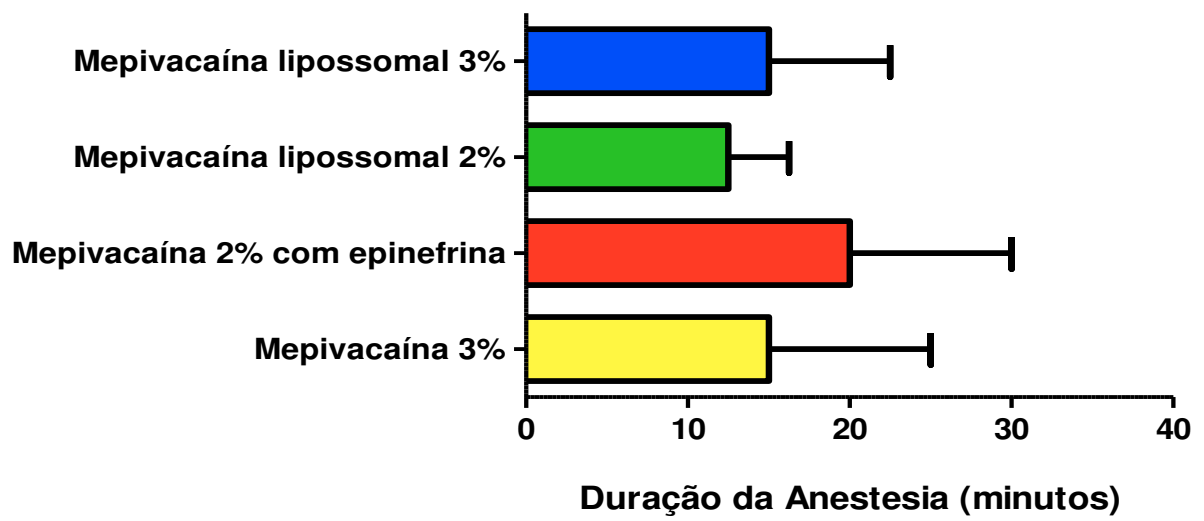


Figura 4. Duração da anestesia (mediana e desvio interquartilico, em minutos) nos molares inferiores após bloqueio do nervo alveolar inferior de ratos com formulações de mepivacaína.

6. DISCUSSÃO

Estudo anterior já havia comprovado a eficácia da encapsulação de mepivacaína em lipossomas, avaliando a anestesia em tecidos moles, após bloqueio do nervo infraorbital em ratos (Cereda et al., 2006).

Levando em consideração a anestesia pulpar, estudo em humano (Tofoli et al. 2011), avaliando a técnica infiltrativa na maxila, demonstrou aumento do tempo de anestesia pulpar (canino superior) da formulação lipossomal de mepivacaína 3% em relação à solução de mepivacaína 3% (respectivamente 32min e 24min para para cada formulação), sendo que esta última não foi diferente da formulação lipossomal de mepivacaína 2%. Entretanto, todas essas formulações resultaram em menor tempo de anestesia do que a solução de mepivacaína 2% com epinefrina 1:100.000.

No presente estudo não foi observada diferença com relação à duração da anestesia entre as formulações. Entretanto, o sucesso da anestesia foi maior (maior número de animais com os molares anestesiados) com a solução de mepivacaína 2% com epinefrina 1:100.000 em relação à mepivacaína 3% no tempo de 10 minutos e em relação à formulação lipossomal de mepivacaína 2% no tempo de 25 minutos. Essa última formulação também apresentou menor porcentagem de sucesso que a solução de mepivacaína 3% no tempo de 25 minutos. A formulação lipossomal a 3% não diferiu das demais formulações.

A diferença de resultado com relação à duração da anestesia entre o presente estudo e o de Tofoli et al. (2011) pode estar relacionada às diferenças nas características dos dois tipos de técnica anestésica, além da diferença das espécies estudadas (humanos e ratos). Enquanto na técnica infiltrativa, utilizada por Tofoli et al. (2011) a formulação anestésica precisa atravessar parte do conjuntivo, periósteo e osso para chegar ao terminal nervoso, no bloqueio do nervo alveolar inferior a formulação é colocada o mais próximo possível do tronco nervoso, devendo apenas atravessar tecido conjuntivo. As altas taxas de sucesso iniciais obtidas no presente estudo (100% para as soluções e 90% para as formulações lipossomais no tempo de 5 minutos) mostram que a técnica de injeção foi correta e as formulações foram injetadas bastante próximas ao nervo alveolar inferior.

Ambos os estudos, entretanto, mostraram que a formulação comercial contendo epinefrina proporciona resultados melhores que a formulação lipossomal com mepivacaína na concentração de 2% e que a solução comercial sem vasoconstritor, sendo no estudo de Tofoli et al (2011) em relação à duração da anestesia e no presente estudo em relação à taxa de sucesso.

Outros estudos com formulações lipossomais injetáveis para uso em anestesia odontológica também tem mostrado resultados pouco promissores, quando comparados aos anestésicos comercialmente disponíveis, contendo vasoconstritor. As formulações lipossomais de prilocaína (Wiziack Zago et al., 2011) e ropivacaína (Franz-Montan et al., 2011) apresentaram menor eficácia que as respectivas formulações contendo vasoconstritor (felipressina e epinefrina), quando utilizadas em técnica infiltrativa em humanos.

Em conjunto, esses resultados mostram que as formulações anestésicas lipossomais podem não ser adequadas para uso em anestesia odontológica, quando se deseja anestesia pulpar. Entretanto, os resultados favoráveis obtidos em animais, para anestesia de tecidos moles, pode sinalizar a possibilidade de uso para controle da dor pós-operatória em medicina. Além disso, as formulações lipossomais podem ser úteis para a anestesia tópica em mucosa, em odontologia, como mostram os resultados de Franz-Montan et al. (2007) com a ropivacaína, e ainda para uso em pele, para o qual já há produtos registrados e disponíveis comercialmente.

Os resultados obtidos no presente estudo mostram que a formulação lipossomal de mepivacaína na concentração de 2% não é adequada para anestesia pulpar. A formulação lipossomal com maior concentração de anestésico (mepivacaína 3%) poderia ser uma alternativa para uso em anestesia odontológica. Entretanto, atualmente a formulação comercial contendo epinefrina apresenta menor custo de produção.

7. CONCLUSÃO

A formulação lipossomal de mepivacaína a 3% apresentou eficácia anestésica semelhante à solução comercial de mepivacaína 2% com epinefrina e mepivacaína 3%, enquanto que a formulação lipossomal de mepivacaína 2% foi menos eficaz que essas.

REFERÊNCIAS*

1. Banerjee R. Liposomes: applications in medicine. *J Biomater Appl.* 2001; 16(1):3-21.
2. Boogaerts JG, Lafont ND, Declercq AG, Luo HC, Gravet ET, Bianchi JA, Legros FJ. Epidural administration of liposome-associated bupivacaine for the management of postsurgical pain: a first study. *J Clin Anesth.* 1994; 6(4):315-20.
3. Boogaerts J, Declercq A, Lafont N, Benameur H, Akodad E M, Dupont J-M, Legros FJ. Toxicity of bupivacaine encapsulated into liposomes and injected intravenously: comparison with plain solutions. *Anesth Analg.* 1993a; 76(3): 553-5.
4. Boogaerts JG, Lafont ND, Luo HC, Legros FJ. Plasma concentration of bupivacaine after brachial plexus administration of liposome associated and pain solutions to rabbits. *Can J. Anesth* 1993b; 40:1201-1204.
5. Cereda CM, Brunetto GB, de Araujo DR, de Paula E. Liposomal formulations of prilocaine, lidocaine and mepivacaine prolong analgesic duration. *Can J Anaesth* 2006; 53(11):1092-7.
6. Certosimo AJ, Archer RD. A clinical evaluation of the electric pulp tester as an indicator of local anesthesia. *Oper Dent.* 1996; 21(1):25-30
7. Epstein-Barash H, Shichor I, Kwon AH, Hall S, Lawlor MW, Langer R, Kohane DS. Prolonged duration local anesthesia with minimal toxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Apr 13. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0900598106.
8. 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.
9. Franz-Montan M, de Paula E, Groppo FC, Ranali J, Volpato MC. Efficacy of liposome-encapsulated 0.5% ropivacaine in maxillary dental anaesthesia. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2011 Aug 8. [Epub ahead of print]

* De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseadas na norma do International Committee of Medical Journal Editors – Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

10. Franz-Montan M, Silva AL, Cogo K, Bergamaschi Cde C, Volpato MC, Ranali J, de Paula E, Groppo FC. Liposome-encapsulated ropivacaine for topical anesthesia of human oral mucosa. *Anesth Analg*. 2007; 104(6): 1528-31.
11. Franz-Montan M, Silva AL, Fraceto LF, Volpato MC, Paula E, Ranali J, Groppo FC. Liposomal encapsulation improves the duration of soft tissue anesthesia but does not induce pulpal anesthesia. *J Clin Anesth*. 2010; 22(5):313-7.
12. Grant GJ, Barenholz Y, Bolotin EM, Bansinath M, Turndorf H, Piskoun B, Davidson EM. A novel liposomal bupivacaine formulation to produce ultralong-acting analgesia. *Anesthesiology* 2004; 101(1):133-7.
13. Grant SA. The Holy Grail: long-acting local anaesthetics and liposomes. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2002; 16(2): 345-52.
14. Lafont ND, Legros FJ, Boogaerts JG. Use of liposome-associated bupivacaine in a cancer pain syndrome. *Anaesthesia* 1996; 51(6):578-9.
15. Malinovsky JM, Benhamou D, Alafandy M, Mussini JM, Coussaert C, Couarraze G, Pinaud M, Legros FJ. Neurotoxicological assessment after intracisternal injection of liposomal bupivacaine in rabbits. *Anesth Analg*. 1997; 85(6):1331-6.
16. Silva RAP, Berto LA, Volpato MC, Ranali J, de Paula E, Groppo FC. Experimental model of inferior alveolar nerve block in rats. 87th General Session and Exhibition of the International Association for Dental Research, 2009, Abstract 706.
17. Tofoli GR, Cereda CM, Groppo FC, Volpato MC, Franz-Montan M, Ranali J, de Araújo DR, de Paula E. Efficacy of liposome-encapsulated mepivacaine for infiltrative anesthesia in volunteers. *J Liposome Res*. 2011; 21(1):88-94.
18. Wiziack Zago PM, Baroni DB, Groppo FC, de Paula E, Ranali J, Volpato MC. Anesthetic efficacy of liposomal prilocaine in maxillary infiltration anesthesia. *J Liposome Res*. 2011; 21(1):81-7.

ANEXOS

ANEXO 1. Certificado da Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA/Unicamp)

 UNICAMP	 CEEA/Unicamp
--	---

**Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEEA/Unicamp**

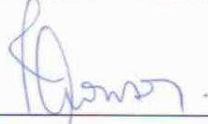
CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 1842-1, sobre "Eficácia anestésica da preparação lipossomal de mepivacaína em bloqueio do nervo alveolar inferior em ratos", sob a responsabilidade de Profa. Dra. Maria Cristina Volpato / Tais Munhoz Andrade, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal – CEEA/Unicamp em 04 de maio de 2009.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº 1842-1, entitled "Anesthetic efficacy of liposomal mepivacaine in inferior alveolar nerve block in rats", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - Unicamp) on May 4, 2009.

Campinas, 04 de maio de 2009.

 Profa. Dra. Ana Maria A. Guaraldo Presidente	 Fátima Alonso Secretária Executiva
--	---

CEEA – Unicamp Caixa Postal 6109 13083-970 Campinas, SP – Brasil	Telefone: (19) 3521-6359 E-mail: comisib@unicamp.br http://www.ib.unicamp.br/ceea/
---	--

ANEXO 2. Aprovação do Relatório Final do Projeto de Iniciação Científica – Bolsa PIBIC/CNPq

Bolsas de Iniciação Científica		Página 1 de 2
		Sistema Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da UNICAMP Termo de Compromisso Bolsa de Iniciação Científica
Instituição: PRÓ-REITORIA DE PESQUISA (PRP) - UNICAMP PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA – PIBIC/CNPq (CNPq - 1ª Chamada)		
Dados do(a) Bolsista		
Aluno(a): TAIS MUNHOZ ANDRADE		(RA: 084611)
Curso: Odontologia		
CIC/CPF do(a) Aluno(a): 36846099867		
RG: 41652324-9SP Órgão Emissor RG: SSPSP Data Emissão RG: 25/11/2002		
Rua/Avenida: Rua Treze de Maio 1229		
Bairro: Cidade Alta		
CEP: 13419270 Cidade: Piracicaba Estado: SP		
E-mail: taismunhoz_@hotmail.com		Telefone: 19/21065308
IMPORTANTE: procedimentos para registrar aceite de bolsa e entrar em folha de pagamento no CNPq: Ter um currículo publicado na Plataforma Lattes do CNPq através do endereço http://lattes.cnpq.br e abrir uma conta corrente individual junto ao Banco do Brasil; O CNPq enviará para o endereço eletrônico informado no seu currículo da Plataforma Lattes uma chave (link), que você deverá acessar para registrar o aceite da bolsa e informar os dados bancários. Para concluir o aceite da bolsa, utilizar-se da senha informada na Plataforma Lattes. OBS.: A falta dessas providências inviabilizará os pagamentos e renovações da bolsa.		
Dados do Orientador		
Nome: MARIA CRISTINA VOLPATO		Matrícula: 221180
Unidade: Faculdade de Odontologia		
Departamento: DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS		
E-mail: volpato@fop.unicamp.br		
Dados do Projeto		
Área: BIOMÉDICAS		
Projeto: EFICÁCIA ANESTÉSICA DA PREPARAÇÃO LIPOSSOMAL DE MEPIVACAÍNA EM BLOQUEIO DO NERVO ALVEOLAR INFERIOR EM RATOS		
Início da Bolsa: 1/8/2009		Término: 31/07/2010
Duração: 12 (meses)		
Entrega do Relatório Parcial de Atividades: 08 a 12 de fevereiro de 2010		
Entrega do Relatório final de atividades: 28 de junho a 02 de julho de 2010		
XVIII Congresso Interno de Iniciação Científica:		
Inscrição: de 03 a 07 de maio de 2010		
http://calendario.az.unicamp.br:7070/ibic/tribolocalizar/TCompPr. ProcuraBolsa.asp		

PROGRAMA DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA – QUOTA INSTITUCIONAL UNICAMP

(quota de agosto de 2009 a julho de 2010)

PARECER SOBRE RELATÓRIO FINAL DE ATIVIDADES

Bolsista: TAIS MUNHOZ ANDRADE - RA 84611

Orientador(a): Prof.(a) Dr.(a) MARIA CRISTINA VOLPATO

Projeto: EFICÁCIA ANESTÉSICA DA PREPARAÇÃO LIPOSSOMAL DE MEPIVACAÍNA EM BLOQUEIO DO NERVO ALVEOLAR INFERIOR EM RATOS

PARECER

CR da aluna é próximo à média da turma. O relatório está bem elaborado e expressa as atividades realizadas pela aluna durante o período de desenvolvimento do estudo.

Conclusão do Parecer:

APROVAR (Sim)
REFORMULAR (Não)
REJEITAR (Não)