

ARTIGO CIENTÍFICO

Influência de diferentes anestésicos locais no bloqueio neuromuscular produzido pelo atracúrio em ratos[☆]



João Paulo Soares da Silva Trizotti^a, Angélica de Fátima de Assunção Braga^b,
Vanessa Henriques Carvalho ^{b,*} e Franklin Sarmiento da Silva Braga^b

^a Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), Faculdade de Ciências Médicas, Campinas, SP, Brasil

^b Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), Faculdade de Ciências Médicas, Departamento de Anestesiologia, Campinas, SP, Brasil

Recebido em 30 de julho de 2019; aceito em 3 de janeiro de 2020

Disponível na Internet em 12 de maio de 2020

PALAVRAS-CHAVE

Anestésicos locais;
Lidocaína;
Bupivacaína
racêmica;
Bloqueadores
neuromusculares não
despolarizantes;
Atracúrio;
Animais;
Ratos

Resumo

Introdução: A associação de anestésicos locais (AL) com bloqueadores neuromusculares (BNM) na prática clínica e a possibilidade de interação entre esses fármacos têm sido investigadas.

Objetivo: Avaliar, em modelo experimental, o efeito da lidocaína e da bupivacaína racêmica na transmissão neuromuscular e sua influência no bloqueio neuromuscular produzido pelo atracúrio.

Método: Ratos machos da linhagem Wistar, peso entre 250 e 300 g. A preparação foi feita de acordo com a técnica proposta por Bulbring. Grupos (n = 5) de acordo com o fármaco em estudo: lidocaína 20 µg.mL⁻¹ (Grupo I); bupivacaína racêmica 5 µg.mL⁻¹ (Grupo II); atracúrio 20 µg.mL⁻¹ (Grupo III); atracúrio 20 µg.mL⁻¹ em preparação previamente exposta a lidocaína 20 µg.mL⁻¹ e bupivacaína racêmica 5 µg.mL⁻¹, Grupos IV e V, respectivamente. Foram avaliados: 1) A amplitude das respostas do hemidiafragma à estimulação indireta antes e 60 minutos após a adição dos fármacos; 2) Os potenciais de membrana (PM) e os potenciais de placa terminal em miniatura (PPTM).

Resultados: Os AL, isoladamente, não alteraram a amplitude das respostas musculares. Com o uso prévio dos AL, o bloqueio neuromuscular (%) do atracúrio foi 86,66 ± 12,48 e 100, respectivamente, com diferença significativa (p = 0,003) em relação ao produzido pelo atracúrio isoladamente (55,7 ± 11,22). Não alteraram o PM. A lidocaína inicialmente aumentou a frequência dos PPTM, seguido de bloqueio; com a bupivacaína, o bloqueio foi progressivo.

[☆] Estudo feito no Departamento de Anestesiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp).

* Autor para correspondência.

E-mail: vanessahcarvalho74@gmail.com (V.H. Carvalho).

KEYWORDS

Local anesthetics;
Lidocaine;
Racemic bupivacaine;
Nondepolarizing
neuromuscular
blocking drugs;
Atracurium;
Animals;
Rats

Conclusão: A lidocaína e a bupivacaína racêmica apresentaram efeito pré-sináptico expresso por alterações nos PPTM, podem justificar a potencialização do bloqueio neuromuscular produzido pelo atracúrio.

© 2020 Sociedade Brasileira de Anestesiologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Influence of different local anesthetics on atracurium neuromuscular blockade on rats**Abstract**

Introduction: The association between Local Anesthetics (LAs) and Neuromuscular Blocking (NMB) drugs in clinical practice, and the possibility of interaction between these drugs has been investigated. LAs act on neuromuscular transmission in a dose-dependent manner and may potentiate the effects of NMB drugs.

Objective: The aim of this study was to evaluate, in an experimental model, the effect of lidocaine and racemic bupivacaine on neuromuscular transmission and the influence on neuromuscular blockade produced by atracurium.

Methods: Male Wistar rats, weighing from 250 g to 300 g were used. The preparation was set up based on a technique proposed by Büllbring. Groups were formed (n = 5) according to the drug studied: lidocaine 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Group I); racemic bupivacaine 5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Group II); atracurium 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Group III); atracurium 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ in a preparation previously exposed to lidocaine 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and racemic bupivacaine 5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, Groups IV and V, respectively. The following parameters were assessed: 1) Amplitude of hemi diaphragmatic response to indirect stimulation before and 60 minutes after addition of the drugs; 2) Membrane Potentials (MP) and Miniature Endplate Potentials (MEPPs).

Results: Lidocaine and racemic bupivacaine alone did not alter the amplitude of muscle response. With previous use of lidocaine and racemic bupivacaine, the neuromuscular blockade (%) induced by atracurium was 86.66 ± 12.48 and 100, respectively, with a significant difference ($p = 0.003$), in comparison to the blockade produced by atracurium alone (55.7 ± 11.22). These drugs did not alter membrane potential. Lidocaine initially increased the frequency of MEPPs, followed by blockade. With the use of bupivacaine, the blockade was progressive.

Conclusions: Lidocaine and racemic bupivacaine had a presynaptic effect expressed by alterations in MEPPs, which may explain the interaction and potentiation of NMB produced by atracurium.

© 2020 Sociedade Brasileira de Anestesiologia. Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introdução

As propriedades farmacológicas dos bloqueadores neuromusculares (BNM), tais como início, duração de ação e grau de bloqueio neuromuscular, podem ser influenciadas por diversos fatores, tais como débito cardíaco, fluxo sanguíneo muscular, distúrbios ácido-base, temperatura, afinidade pelo local de ação, potência e a dose administrada, assim como fármacos empregados durante a anestesia, como os anestésicos locais (AL), comumente usados no bloqueio do neuroeixo em associação com a anestesia geral.¹⁻⁷

Alguns autores descrevem que o uso isolado de altas doses de AL pode acarretar no comprometimento da transmissão neuromuscular e, conseqüentemente, potencializar o bloqueio neuromuscular produzido por baixas doses de bloqueadores neuromusculares (BNM).⁸

O mecanismo de ação dos AL na transmissão neuromuscular e seus efeitos nos componentes sinápticos e eletrofisiológicos são explicados por ação pré-sináptica, que inibe a liberação da acetilcolina, e ação pós-sináptica, por

meio da estabilização da membrana pós-juncional, além de interferência com o mecanismo de excitação-contracção da fibra muscular.⁹⁻¹²

Embora somente em doses elevadas os AL possam alterar a margem de segurança da transmissão neuromuscular, é de grande importância conhecer a possibilidade de interação com os BNM.^{8,13} O objetivo deste estudo foi avaliar, em modelo experimental, o efeito da lidocaína e da bupivacaína racêmica na transmissão neuromuscular e a sua influência no bloqueio neuromuscular produzido pelo atracúrio.

Método

Após aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA – IB – Unicamp (registrado com o n° 4672-1/2017 e protocolo n° 1204-1) e de acordo com as recomendações do Concea (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal), foram usados ratos machos da linhagem Wistar, com peso entre 250 g e 300 g. Os animais foram anestesiados com isoflurano em atmosfera saturada e eutanasiados por

aprofundamento anestésico. Em seguida, foram exsangüinados por secção dos vasos do pescoço para facilitar a identificação e remoção do hemidiafragma esquerdo e do nervo frênico correspondente, conforme técnica descrita por Bulbring.¹⁴

O conjunto nervo-músculo foi fixado em cuba com 40 mL de solução nutritiva de Tyrode e aerado com carbogênio (95% O₂ + 5% CO₂) e mantido a 37°C. O nervo foi colocado sobre eletrodos de platina ligados a um estimulador GRASS modelo S88. O hemidiafragma foi mantido por sua porção tendinosa sob tensão constante (5 g), foi submetido à estimulação indireta de 0,1 Hz de frequência e duração de 0,2 m.sec⁻¹. As variações de tensão produzidas pelas contrações do hemidiafragma foram registradas em fisiógrafo Gould RS 3400.

Para o cálculo do número de animais, foram empregados resultados de estudo prévio experimental,¹⁵ no qual foi observado que o grau de bloqueio motor produzido pelo pancurônio (93,8%) foi significativamente maior em ratos expostos previamente à ropivacaína, em comparação com os não expostos ao AL (54,9%), com uma diferença de 38,9%. Portanto, para o cálculo do tamanho amostral foi usado como variável o grau do bloqueio motor. Considerando arbitrariamente um aumento aproximado de 85% nos animais expostos ao AL com diferença significativa em relação aos não expostos (erro β = 20% e erro α = 5%), com relação 1:1 entre animais expostos e não expostos, foi obtido um (n) de cinco ratos por grupo.

Os ratos foram distribuídos em cinco grupos (n = 5), de acordo com a solução adicionada à preparação: Grupo I – lidocaína (20 μ g.mL⁻¹); Grupo II – bupivacaína racêmica (5 μ g.mL⁻¹); Grupo III – atracúrio (20 μ g.mL⁻¹); Grupo IV – atracúrio (20 μ g.mL⁻¹) em preparação previamente exposta à lidocaína (20 μ g.mL⁻¹); Grupo V – atracúrio (20 μ g.mL⁻¹) em preparação previamente exposta à bupivacaína racêmica (5 μ g.mL⁻¹). Os fármacos estudados foram fornecidos pelo Laboratório Cristália.

Nos grupos em que se usou a associação dos fármacos (Grupos IV e V), o atracúrio foi adicionado à preparação 30 minutos após a adição dos AL. As respostas musculares à estimulação indireta foram registradas durante 60 minutos após a adição do BNM.

O hemidiafragma foi usado para avaliar os efeitos dos anestésicos locais, lidocaína (20 μ g.mL⁻¹) e bupivacaína racêmica (5 μ g.mL⁻¹), nos potenciais de membrana (PM) e nos potenciais de placa terminal em miniatura (PPTM). Para avaliação dos PM, o microeletrodo foi inserido nas fibras musculares superficiais em regiões distantes da placa motora terminal, com medição nos seguintes momentos: zero (controle – antes da adição dos AL); e aos 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos, após a adição dos AL. Os PPTM foram registrados antes (controle) e 30 e 60 minutos após a adição dos AL. Para registro dos PPTM, o microeletrodo foi inserido o mais próximo possível da placa motora terminal e os biopotenciais foram observados com auxílio de osciloscópio e registro em microcomputador.

Os seguintes dados foram analisados: amplitude das respostas musculares antes e 60 minutos após a adição dos AL e de atracúrio, isoladamente; amplitude das respostas musculares antes e 60 minutos após a adição do atracúrio em preparação previamente exposta a AL; PM e PPTM. Os resultados foram expressos como valores médios e

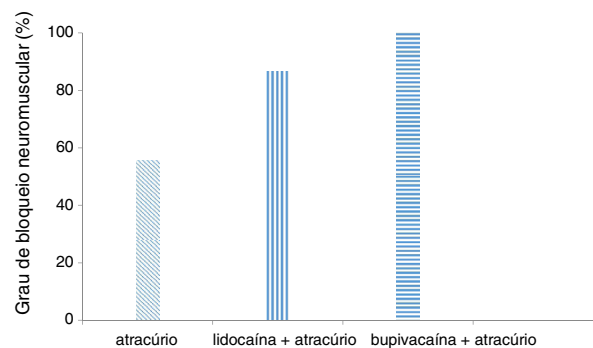


Figura 1 Grau de bloqueio neuromuscular (%) com atracúrio isoladamente e em preparações previamente expostas a lidocaína e bupivacaína racêmica.

desvios-padrão. Na análise estatística, foram usados os testes de Kruskal-Wallis para comparação do grau de bloqueio neuromuscular entre três grupos (III, IV e V) e de Mann-Whitney para comparação entre dois grupos (IV e V). Para a comparação dos potenciais de membrana nas fibras musculares no momento controle com os demais tempos estudados, empregou-se o teste de Wilcoxon. Assumiu-se nível significativo de 5% ($p < 0,05$).

Resultados

A lidocaína e a bupivacaína racêmica nas concentrações estudadas e empregadas isoladamente em preparação nervo frênico-hemidiafragma de rato não causaram redução na amplitude das respostas musculares à estimulação elétrica indireta. Nas preparações expostas previamente à lidocaína e à bupivacaína racêmica, o bloqueio produzido pelo atracúrio foi de 86,66% ± 12,48% e 100% ± 0%, respectivamente, com diferença significativa ($p = 0,003$) em relação ao produzido pelo atracúrio empregado isoladamente (55,7% ± 11,22%) (fig. 1).

Nos estudos eletrofisiológicos, observamos que os anestésicos locais, nas concentrações empregadas, não produziram alterações nas medidas do potencial de membrana das fibras musculares. Sobre os potenciais de placa terminal em miniatura, a lidocaína causou inicialmente, 30 minutos após a adição da droga, um aumento na frequência, seguido de bloqueio após 60 minutos. Ao contrário do observado com a lidocaína, nas preparações expostas à bupivacaína racêmica houve bloqueio progressivo dos PPTM (fig. 2).

Discussão

Os AL podem interferir na função neuromuscular e exercer sua ação em diferentes componentes da junção mioneural. Vários mecanismos estão envolvidos nessa atividade e, conseqüentemente, na interação entre esses fármacos com os bloqueadores neuromusculares. Embora existam muitos trabalhos que buscam explicar os efeitos diretos dos AL sobre a placa mioneural, o mecanismo exato pelo qual interferem na transmissão neuromuscular permanece em discussão.

Na região pré-sináptica, podem bloquear a condução das fibras terminais do nervo motor, além de inibir a liberação de acetilcolina durante a estimulação nervosa, evento esse

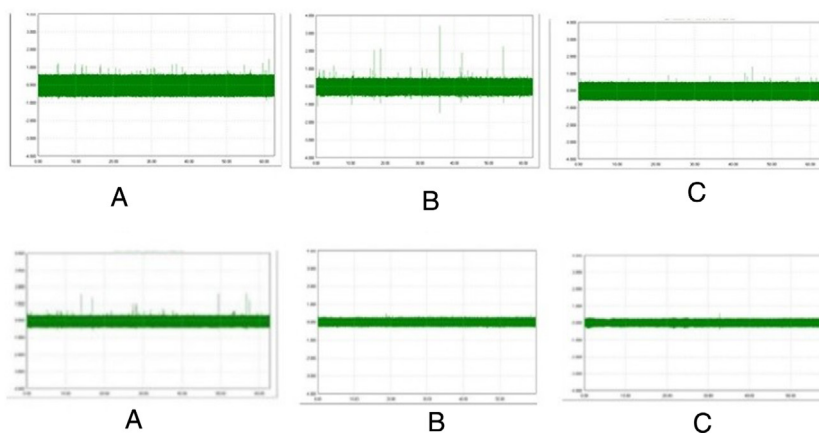


Figura 2 Efeitos da lidocaína – $20 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (traçado superior) e bupivacaína racêmica – $5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (traçado inferior), nos potenciais em miniatura da placa terminal em preparação diafragma de rato. A, antes da adição dos anestésicos locais (controle); B e C, 30 minutos e 60 minutos após a adição dos anestésicos locais.

já observado em vários estudos experimentais em que foram usados diferentes anestésicos locais.^{9,10,15-19}

Estudos experimentais que usaram preparação nervo frênico-hemidiafragma de rato, feitos para avaliar ação pós-sináptica dos AL, mostraram resultados semelhantes aos obtidos neste estudo, em que os AL, quando empregados isoladamente, não causaram redução na amplitude das respostas musculares à estimulação indireta. Entretanto, nas preparações previamente expostas aos AL, foi observada potencialização do grau de bloqueio neuromuscular produzido por diferentes BNM quando comparado com aquele resultante do emprego desses fármacos de forma isolada.¹⁶⁻¹⁸

Neste estudo, as concentrações empregadas dos fármacos avaliados (lidocaína, bupivacaína e atracúrio) foram previamente testadas e estabelecidas em projetos anteriores.^{16,20-22}

Os resultados deste trabalho mostram que, em preparação nervo frênico-hemidiafragma de rato, o bloqueio produzido pelo atracúrio em preparações previamente expostas a esses anestésicos locais foi significativamente maior do que o observado em preparações não expostas.

A interação entre anestésicos locais e bloqueadores neuromusculares, com consequente potencialização do bloqueio neuromuscular produzido por esses últimos, também já foi evidenciada em trabalhos clínicos.²⁻⁷ Há, na literatura, ensaios clínicos feitos por vários autores que avaliaram a influência da lidocaína e da bupivacaína administradas por diferentes vias (epidural e venosa) nas características do bloqueio neuromuscular produzido por atracúrio, vecurônio e rocurônio. Esses autores observaram, nos pacientes que receberam anestésicos locais, potencialização do bloqueio neuromuscular evidenciada pela maior duração clínica, menor dose de manutenção do bloqueador neuromuscular, correlação negativa entre a concentração plasmática do anestésico local e a ED₅₀ do bloqueador neuromuscular e maior tempo para reversão do bloqueio após o uso de neostigmina. Demonstraram que o BNM é mais potente nos pacientes que recebem simultaneamente anestésicos

locais em relação àqueles que só são submetidos à anestesia geral.^{2,3,5,23}

Nos estudos eletrofisiológicos, conforme avaliados em outros estudos, esses fármacos não apresentaram ação despolarizante sobre a fibra muscular. Essa atividade pode ser comprovada pela avaliação dos potenciais de membrana das fibras musculares que se mantiveram dentro dos limites de normalidade.^{16,24}

A avaliação do efeito da lidocaína e da bupivacaína na região pré-sináptica foi feita pela análise da frequência e da amplitude dos PPTM em preparação exposta aos anestésicos locais. Observou-se uma redução desses potenciais ao longo do tempo, o que demonstra prejuízo na liberação quantal do neurotransmissor com diminuição da margem de segurança da junção neuromuscular, que pode ser uma das explicações para a potencialização de bloqueadores neuromusculares. A ação dos anestésicos locais na região pós-sináptica, avaliada em preparações *biventer cervicis* de pintainho, foi comprovada por diminuição significativa da resposta contratante à acetilcolina, pode sugerir um mecanismo competitivo entre o anestésico local e o neurotransmissor.^{19,24,25}

Além disso, os AL podem se ligar a diferentes sítios específicos de acetilcolina, seguido de dessensibilização de receptores, e ainda ocluir temporariamente os canais dos receptores nicotínicos. A explicação para a interação entre essas duas classes de drogas, portanto, é multifatorial. Os AL, por bloquear a condução dentro da fibra nervosa, podem interferir na transmissão neuromuscular. Não existem evidências de que inibam a síntese de acetilcolina, porém eles reduzem a amplitude e a frequência do potencial de placa terminal em miniatura, diminuem a liberação da acetilcolina ou a sensibilidade da membrana pós-juncional para esse neurotransmissor.^{9,11,13,14,25,26}

A potencialização do bloqueio neuromuscular produzido por atracúrio, lidocaína e bupivacaína torna-se relevante na prática clínica, visto que associar técnicas anestésicas que impliquem o uso simultâneo de anestésicos locais e bloqueadores neuromusculares pode ocasionar efeitos indesejáveis durante e após procedimentos cirúrgicos.

Limitação do estudo

Por ser um estudo experimental em ratos, e apesar da ausência de vieses nos experimentos feitos, não podemos extrapolar quantitativamente para a evidência clínica. Ou seja, apesar de essa interação poder diferir entre as espécies e a extrapolação desses resultados para humanos não ser quantitativamente semelhante, as implicações clínicas da interação tornam imprescindível a necessidade de monitoração do bloqueio neuromuscular, maneira mais adequada para se avaliar o emprego correto e seguro desses fármacos.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Agradecimentos

Queremos agradecer aos departamentos de Farmacologia e Anestesiologia da Universidade de Campinas, onde a pesquisa foi realizada.

Referências

- Donati F. Onset of action of relaxants. *Can J Anaesth*. 1988;35:52–8.
- Toft P, Kirkegaard Nielsen H, Severinsen I, et al. Effect of epidurally administered bupivacaine on atracurium-induced neuromuscular blockade. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1990;34:649–52.
- Taivainen T, Meretoja OA, Rosenberg PH. The effect of epidural bupivacaine on vecuronium-induced neuromuscular blockade in children. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1994;38:453–6.
- Nonaka A, Sugawara T, Suzuki S, et al. Pretreatment with lidocaine accelerates onset of vecuronium-induced neuromuscular blockade. *Masui*. 2002;51:880–3.
- Munakata K, Suzuki T, Watanabe N, et al. Influence of epidural lidocaine injection on vecuronium-induced neuromuscular blockade. *Masui*. 2004;53:1377–80.
- Suzuki T, Mizutani H, Ishikawa K, et al. Epidurally administered mepivacaine delays recovery of train-of-four ratio from vecuronium-induced neuromuscular block. *B J Anaesth*. 2007;99:721–5.
- Sahin SH, Colak A, Sezer A, et al. Effect of epidural levobupivacaine on recovery from vecuronium-induced neuromuscular block in patients undergoing lower abdominal surgery. *Anaesth Intensive Care*. 2011;39:607–10.
- Telivuo L, Katz RL. The effects of modern intravenous local anesthetics on respiration during partial neuromuscular block in man. *Anaesthesia*. 1970;25:30–5.
- Usubiaga JE, Wikinski JA, Morales RL. Interaction of intravenously administered procaine, lidocaine and succinylcholine in anesthetized subjects. *Anesth Analg*. 1967;46:39–45.
- Matsuo S, Rao DB, Chaudry I, et al. Interaction of muscle relaxants and local anesthetics at the neuromuscular junction. *Anesth Analg*. 1978;57:580–7.
- Neher E, Steinbach JH. Local anaesthetics transiently block currents through single acetylcholine-receptor channels. *J Physiol*. 1978;277:153–76.
- Sine SM, Taylor P. Local anesthetics and histrionicotoxin are allosteric inhibitors of the acetylcholine receptor. *Studies of clonal muscle cells*. *J Biol Chem*. 1982;257:8106–14.
- Pederneiras SG. Interação de drogas com relaxants musculares. *Rev Bras Anesthesiol*. 1988;38:63–73.
- Bulbring E. Observation on the isolated phrenic nerve-diaphragm preparation of the rat. *Br J Pharmacol*. 1946;1:38–61.
- Braga Ade F, Carvalho VH, Braga FS, et al. Effect of ropivacaine combined with pancuronium on neuromuscular transmission and effectiveness of neostigmine and 4-aminopyridine for blockade reversal: experimental study. *Rev Bras Anesthesiol*. 2015;65:136–40.
- Carvalho VH, Braga Ade F, Braga FS, et al. The influence of lidocaine and racemic bupivacaine on neuromuscular blockade produced by rocuronium. A study in rat phrenic nerve-diaphragm preparation. *Acta Cir Bras*. 2009;24:211–5.
- Carvalho VH, Braga Ade F, Braga FS, et al. Association between levobupivacaine and pancuronium. Interference in neuromuscular transmission and blockade in rats. *Acta Cir Bras*. 2016;31:486–9.
- Braga Ade F, Carvalho VH, da Silva Braga FS, et al. Effect of 50% enantiomeric excess bupivacaine mixture combined with pancuronium on neuromuscular transmission in rat phrenic nerve-diaphragm preparation; a pilot study. *Indian J Anaesth*. 2015;59:701–5.
- Braga Ade F, Carvalho VH, Braga FS, et al. Evidence of presynaptic and postsynaptic action of local anesthetics in rats. *Acta Cir Bras*. 2013;28:774–7.
- De Barcelos CC, Braga Ade F, Braga FS, et al. In vitro and in vivo neuromuscular effects of atracurium and rocuronium in rats treated with carbamazepine for seven days. *Rev Bras Anesthesiol*. 2008;58:137–51.
- Fernandes SC, Braga Ade F, Braga FS, et al. Influence of lithium on the neuromuscular blockade produced by atracurium and cisatracurium: study on rat phrenic nerve-diaphragm preparations. *Rev Bras Anesthesiol*. 2007;57:289–300.
- Sousa SR, Braga Ade F, Potério GM, et al. Influence of nifedipine on the neuromuscular block produced by atracurium and cisatracurium: study in rat phrenic-diaphragmatic nerve preparation. *Rev Bras Anesthesiol*. 2006;56:157–67.
- Cardoso LS, Martins CR, Tardelli MA. Effects of intravenous lidocaine on the pharmacodynamics of rocuronium. *Rev Bras Anesthesiol*. 2005;55:371–80.
- Bowman WC. Prejunctional and postjunctional cholinergic receptors at the neuromuscular junction. *Anesth Analg*. 1980;59:935–43.
- Braga Ade F, Carvalho VH, Braga FS, et al. Influence of local anesthetics on the neuromuscular blockade produced by rocuronium: effects of lidocaine and 50% enantiomeric excess bupivacaine on the neuromuscular junction. *Rev Bras Anesthesiol*. 2009;59:725–34.
- Usubiaga JE, Standaert F. The effect of local anesthetics on motor nerve terminals. *J Pharmacol Exp Ther*. 1968;159:353–61.