

# Influência da Lidocaína no Bloqueio Neuromuscular Produzido pelo Rocurônio. Estudo em Preparação Nervo Frênico-Diafragma de Rato\*

## *Influence of Lidocaine on the Neuromuscular Block Produced by Rocuronium. Study in Rat Phrenic-Diaphragmatic Nerve Preparation*

Yolanda Christina S. Loyola<sup>1</sup>; Angélica de Fátima de Assunção Braga, TSA<sup>2</sup>, Glória Maria Braga Potério, TSA<sup>2</sup>, Silmara Rodrigues de Sousa<sup>1</sup>, Samanta Cristina Antoniassi Fernandes<sup>1</sup>, Franklin S. da Silva Braga<sup>3</sup>.

### RESUMO

Loyola YCS, Braga AFA, Potério GMB, Sousa SR, Fernandes SCA, Braga FSS - Influência da Lidocaína no Bloqueio Neuromuscular Produzido pelo Rocurônio. Estudo em Preparação Nervo Frênico-Diafragma de Rato.

**JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS:** O mecanismo de ação dos anestésicos locais (AL) na junção neuromuscular motivou a realização de vários estudos. Em baixas doses eles não interferem na transmissão neuromuscular, mas em altas doses podem comprometer a transmissão neuromuscular e potencializar os efeitos de bloqueadores neuromusculares. O objetivo do estudo foi avaliar, em diafragma de rato, a interação da lidocaína com o rocurônio através da influência no grau de bloqueio neuromuscular.

**MÉTODO:** Foram utilizados ratos, com peso entre 250 e 300 g. A preparação foi feita de acordo com a técnica descrita por Bulbring. Formaram-se grupos ( $n = 5$ ) de acordo com a droga em estudo: lidocaína –  $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (Grupo I); rocurônio –  $4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (Grupo II) e rocurônio –  $4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  com lidocaína –  $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (Grupo III). Foram avaliadas: 1) a amplitude das respostas do músculo diafragma à estimulação indireta, antes e 60 minutos após a adição da lidocaína e do bloqueador neuromuscular; 2) os potenciais de membrana (PM) e potenciais de placa terminal em miniatura (PPTM); 3) a eficácia da neostigmina e 4-aminopiridina na reversão do bloqueio neuromuscular.

**RESULTADOS:** A lidocaína isoladamente não alterou a amplitude das respostas musculares. Com o uso prévio de lidocaína o bloqueio neuromuscular do rocurônio foi de  $82,8\% \pm 1,91\%$ , com diferença significativa ( $p = 0,0079$ ) em relação ao grupo com rocurônio isolado ( $57,8\% \pm 1,9\%$ ). O bloqueio foi parcial e totalmente revertido pela neostigmina e 4-aminopiridina, respectivamente. A lidocaína não alterou o potencial de membrana e ocasionou aumento inicial na frequência dos PPTM, seguido de bloqueio.

**CONCLUSÕES:** A lidocaína potencializou o bloqueio neuromuscular produzido pelo rocurônio. As alterações do PPTM identificam ação pré-sináptica. O antagonismo completo da 4-aminopiridina sugere componente pré-sináptico, idéia que é suportada pelo antagonismo parcial pela neostigmina.

**Unitermos:** ANESTÉSICOS, Local: lidocaína; ANIMAIS: ratos BLOQUEADORES NEUROMUSCULARES, Não-despolarizantes: rocurônio.

### SUMMARY

Loyola YCS, Braga AFA, Potério GMB, Sousa SR, Fernandes SCA, Braga FSS – Influence of Lidocaine on the Neuromuscular Block Produced by Rocuronium. Study in Rats. Phrenic-Diaphragmatic Nerve Preparation.

**BACKGROUND AND OBJECTIVES:** The action mechanism of local anesthetics (LA) on neuromuscular junction motivated several studies. When administered at low doses, they do not interfere on neuromuscular transmission. But high doses may compromise neuromuscular transmission and increase the effects of neuromuscular blockers. The objective of this study was to evaluate lidocaine interaction with rocuronium on rat diaphragm through its influence on neuromuscular block degree.

**METHODS:** Rats, weighing between 250 and 300 g, were used. Preparation was set according to the technique described by Bulbring. Groups were formed ( $n = 5$ ) according to the drug being studied: lidocaine –  $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (Group I); rocuronium –  $4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (Group II), and rocuronium –  $4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  with lidocaine –  $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (Group III). The following items were assessed: 1) the extent of diaphragm muscle responses to indirect stimulation, both before and 60 minutes after adding lidocaine and a neuromuscular blocker; 2) membrane potentials (MP) and miniature end-plate potentials (MEPP); 3) the effectiveness of neostigmine, and 4) aminopyridine on neuromuscular blockage reversal.

**RESULTS:** When administered separately, lidocaine did not alter the extent of muscular responses. With the previous use of lidocaine, rocuronium neuromuscular blockage was  $82.8\% \pm 1.91\%$ , with a significant difference ( $p = 0.0079$ ) when compared to the group with isolated rocuronium ( $57.8\% \pm 1.9\%$ ). Blockage was both partially and fully reverted by neostigmine and 4-aminopyridine, respectively. Lidocaine did not alter membrane potential and caused an initial increase on MEPP, followed by a blockage.

**CONCLUSIONS:** Lidocaine increases the neuromuscular blocking produced by rocuronium. MEPP modifications identify a presynaptic action. The complete antagonism of 4-aminopyridine indicates a presynaptic component. This idea is supported by the partial antagonism through neostigmine.

**Key Words:** ANESTHETICS, Local: lidocaine; ANIMALS: rats; NEUROMUSCULAR BLOCKERS, Nondepolarizing: rocuronium.

\* Recebido do (Received from) Departamento de Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP

1. Aluna do Curso de Pós-Graduação do Departamento de Farmacologia da FCM da UNICAMP.

2. Prof<sup>a</sup> Associada do Departamento de Anestesiologia da FCM da UNICAMP.

3. Prof. Dr. do Departamento de Anestesiologia da FCM da UNICAMP.

Apresentado (Submitted) em 18 de agosto de 2005  
Aceito (Accepted) para publicação em 19 de dezembro de 2005

Endereço para correspondência (Correspondence to):

Dra. Angélica de Fátima de Assunção Braga  
Rua Luciano Venere Decourt, 245  
Cidade Universitária  
13084-040 Campinas, SP

E-mail: franklinbraga@terra.com.br

© Sociedade Brasileira de Anestesiologia, 2006

## INTRODUÇÃO

As propriedades farmacológicas dos bloqueadores neuromusculares (BNM), tais como início de ação, grau de bloqueio neuromuscular e duração de ação dependem de vários fatores. Estes incluem o débito cardíaco, o tempo circulatório para o músculo, o fluxo sanguíneo muscular, a afinidade pelo local de ação, a potência e a dose administrada<sup>1</sup>. Também existem evidências de que altas doses de anestésicos locais empregadas isoladamente podem comprometer a transmissão neuromuscular, e potencializar o bloqueio neuromuscular produzido por baixas doses de bloqueadores neuromusculares não-despolarizantes e despolarizantes<sup>2</sup>.

Os anestésicos locais, particularmente as amino-amidas, tais como a lidocaína e a bupivacaína, são fármacos comumente empregados na prática clínica em anestesia peridural associada à anestesia geral. Por via venosa, a lidocaína é usada durante a indução anestésica para atenuar as respostas reflexas desencadeadas pelas manobras de laringoscopia e intubação traqueal e como droga auxiliar no tratamento de disritmias cardíacas no intra-operatório<sup>2-7</sup>. O rocurônio é um bloqueador neuromuscular não-despolarizante, aminoesteróide, de duração de ação intermediária, com início rápido de ação, característica que o diferencia dos demais bloqueadores não-despolarizantes e o torna um agente alternativo para a succinilcolina em situações de indução de seqüência rápida<sup>7-9</sup>.

São admitidos vários mecanismos para explicar a interação entre os anestésicos locais e os bloqueadores neuromusculares, tais como ação pré-sináptica, inibindo a liberação da acetilcolina e ação pós-sináptica, através da estabilização da membrana pós-juncional, além de interferência com o mecanismo de excitação-contração da fibra muscular<sup>10-14</sup>.

Trabalhos apontam para possível interação lidocaína - bloqueadores neuromusculares, potencializando os efeitos dos bloqueadores neuromusculares<sup>4,10</sup>. Embora somente em altas doses os anestésicos locais possam produzir bloqueio neuromuscular, a interação com os bloqueadores neuromusculares, particularmente os não-despolarizantes, torna-se clinicamente relevante, necessitando-se de observação cuidadosa quando do emprego simultâneo desses agentes, ou em situações em que a margem de segurança da transmissão neuromuscular estiver reduzida<sup>2,15</sup>.

O objetivo deste estudo foi avaliar, em modelo experimental, o efeito da lidocaína na transmissão neuromuscular e a sua influência no bloqueio neuromuscular produzido pelo rocurônio.

## MÉTODO

Foi realizado estudo experimental obedecendo aos princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) que foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

Foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar, com peso entre 250 e 300 g, sacrificados sob anestesia com hidrato de cloral a 10% (250 mg.kg<sup>-1</sup>), por via intraperitoneal, e sangria por secção dos vasos do pescoço. A preparação foi feita de acordo com a técnica descrita por Bulbring<sup>16</sup>. Os hemidiafragmas com os nervos frênicos correspondentes foram retirados e fixados em cuba contendo 40 mL de solução nutritiva de Tyrode com

a seguinte composição em mM: NaCl 137; KCl 2,7; CaCl<sub>2</sub> 1,8; NaHCO<sub>3</sub> 11,9; MgCl<sub>2</sub> 0,25; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,3 e glicose 11. A solução foi aerada constantemente com carbogênio (95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub>) e mantida a 37° C. O nervo foi colocado sobre eletrodos de platina ligados a um estimulador Grass S48. O diafragma foi mantido por sua porção tendinosa sob tensão constante (5,0 g), através de fio ligado a transdutor isométrico Load Cell BG50 GMS, e submetido à estimulação indireta de 0,1 Hz de frequência e duração de 0,2 msec, sendo que as variações de tensão produzidas pelas contrações do diafragma foram registradas em fisiógrafo Gould RS 3400. Formaram-se grupos (n = 5), de acordo com o fármaco adicionado à preparação: Grupo I - lidocaína (20 µg.mL<sup>-1</sup>); Grupo II - rocurônio (4 µg.mL<sup>-1</sup>); Grupo III - rocurônio (4 µg.mL<sup>-1</sup>) em preparação previamente exposta à lidocaína (20 µg.mL<sup>-1</sup>). No Grupo III (lidocaína-rocurônio), o rocurônio foi adicionado à preparação 30 minutos após a adição da lidocaína. As respostas musculares à estimulação indireta foram registradas durante 60 minutos após a adição dos fármacos. Para a reversão do bloqueio neuromuscular ocasionado pela associação lidocaína-rocurônio, empregaram-se neostigmina (2 µg.mL<sup>-1</sup>) e a 4-aminopiridina (4AP) (20 µg.mL<sup>-1</sup>), adicionadas à preparação 60 minutos após o BNM. Utilizou-se também a preparação nervo frênico-diafragma para a o estudo dos efeitos da lidocaína nos potenciais de placa terminal em miniatura e nos potenciais de membrana. Foram avaliados: 1) a amplitude das respostas do músculo diafragma à estimulação indireta, antes e 60 minutos após a adição de lidocaína; 2) a amplitude das respostas do músculo diafragma à estimulação indireta, antes e 60 minutos após a adição do bloqueador neuromuscular; 3) os potenciais de membrana (PM) e potenciais de placa terminal em miniatura (PPTM); 4) a eficácia da neostigmina e da 4-aminopiridina na reversão do bloqueio neuromuscular.

Os resultados foram expressos em média e desvios-padrão. Para análise estatística foram utilizados os testes de Mann-Whitney e de Wilcoxon para amostras pareadas. Assumiu-se nível significativo de 5% ( $\alpha = 5\%$ ). O poder do teste foi calculado e obteve-se  $\beta > 20\%$  (poder  $> 80\%$ ).

## RESULTADOS

A lidocaína na concentração estudada e empregada isoladamente em preparação nervo frênico-diafragma de rato não causou redução na amplitude das respostas musculares à estimulação elétrica indireta (Figura 1).

Nas preparações expostas previamente à lidocaína o bloqueio produzido pelo rocurônio foi de 82,8%  $\pm$  1,91%, com diferença significativa ( $p = 0,0079$ ) em relação ao produzido pelo rocurônio empregado isoladamente (57,8%  $\pm$  11,9%), figuras 2 e 3, respectivamente.

O bloqueio neuromuscular causado pelo rocurônio, nas preparações expostas à lidocaína, foi revertido parcial e totalmente pela neostigmina (Figura 4) e pela 4-aminopiridina (Figura 3), respectivamente.

Não se observou efeito com diferença estatística significativa da lidocaína sobre os potenciais de membrana. Os efeitos sobre os potenciais de placa terminal em miniatura caracterizaram-se inicialmente por aumento na frequência, observado 30 minutos após a adição da droga, seguido de bloqueio aos 60 minutos (Figura 5).



INFLUÊNCIA DA LIDOCAÍNA NO BLOQUEIO NEUROMUSCULAR PRODUZIDO PELO ROCURÔNIO. ESTUDO EM PREPARAÇÃO NERVO FRÊNICO-DIAFRAGMA DE RATO

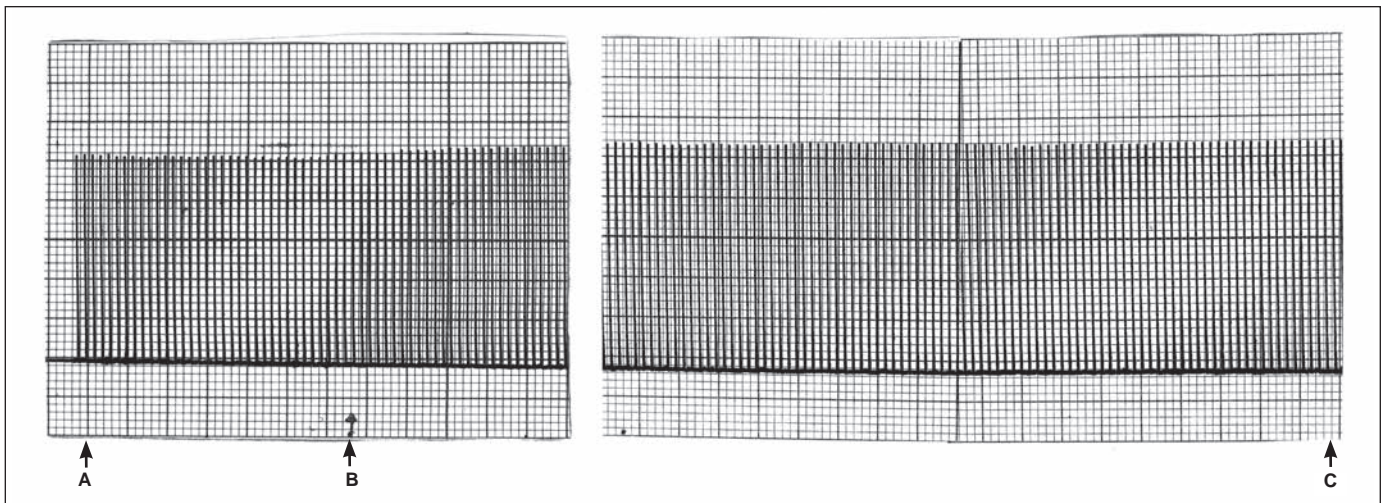


Figura 1 - Efeito da Lidocaína ( $20 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) nas Respostas Musculares à Estimulação Indireta. A: controle; B: adição de lidocaína; C: 60 minutos após a adição de lidocaína.

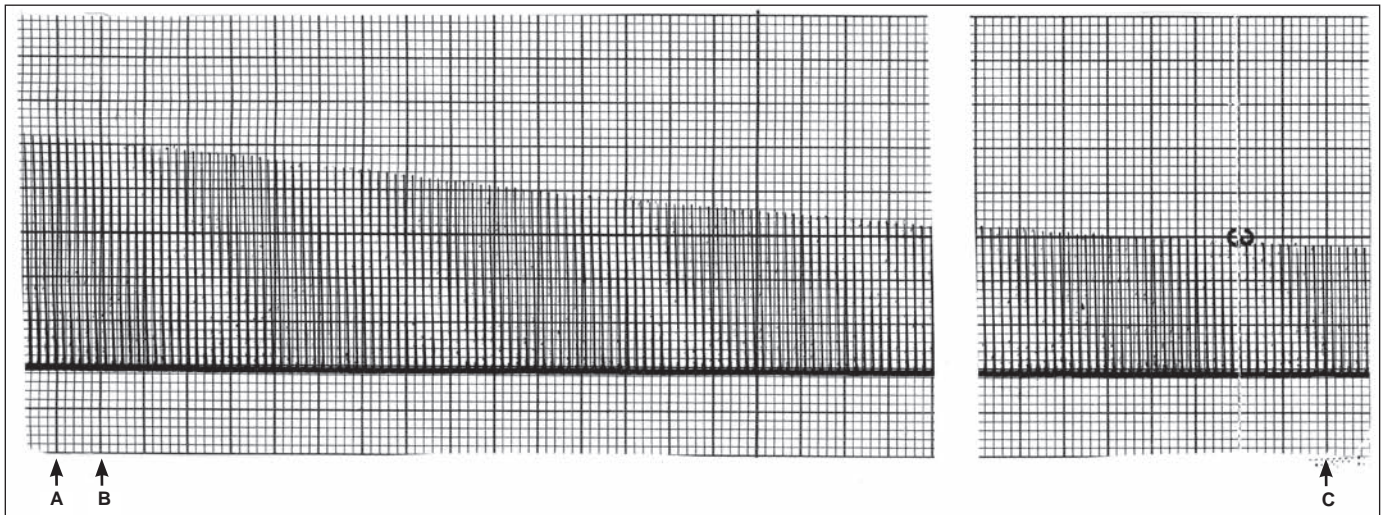


Figura 2 - Efeito do Rocurônio ( $4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) nas Respostas Musculares à Estimulação Indireta. A: controle; B: adição do rocurônio; C: 60 minutos após a adição de rocurônio.

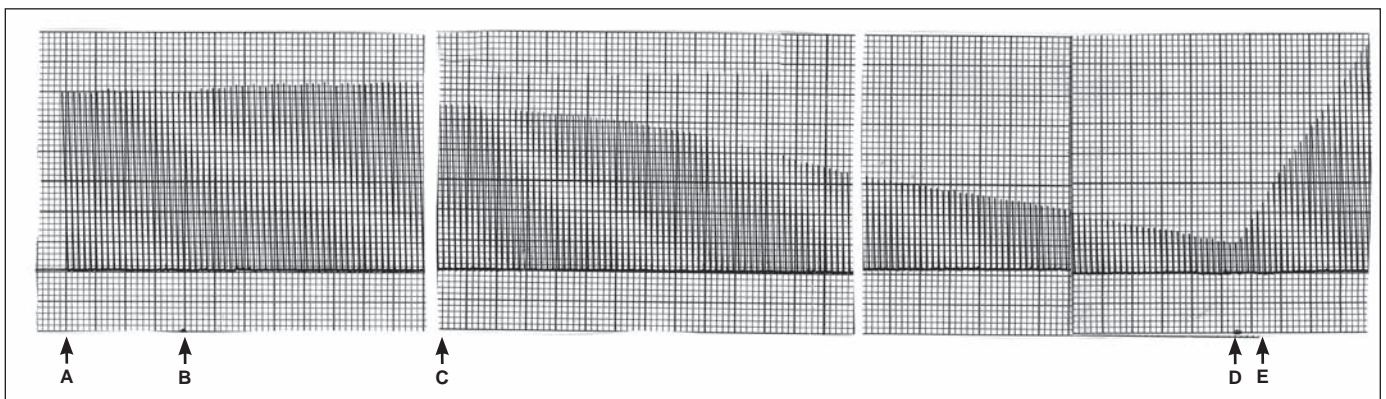


Figura 3 - Efeito do Rocurônio ( $4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) nas Respostas Musculares à Estimulação Indireta em Preparação Nervo Frênico-Diafragma de Rato Expostas à Lidocaína ( $20 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ). Efeito da 4- Aminopiridina. A: controle; B: adição de lidocaína; C: adição de rocurônio 30 minutos após a lidocaína; D: 60 minutos após rocurônio; E: 4-AP ( $20 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ).



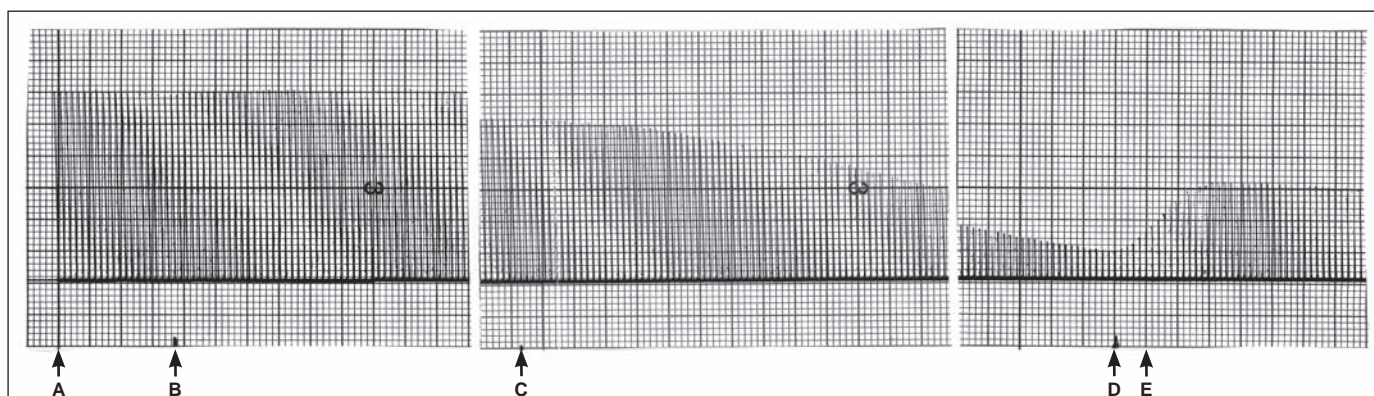


Figura 4 - Efeito do Rocurônio ( $4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) nas Respostas Musculares à Estimulação Indireta em Preparação Nervo Frênico-Diafragma de Rato Expostas à Lidocaína ( $20 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ). Efeito da Neostigmina.

A: controle; B: adição de lidocaína; C: adição de rocurônio 30 minutos após a lidocaína; D: 60 minutos após rocurônio; E: neostigmina ( $2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ).

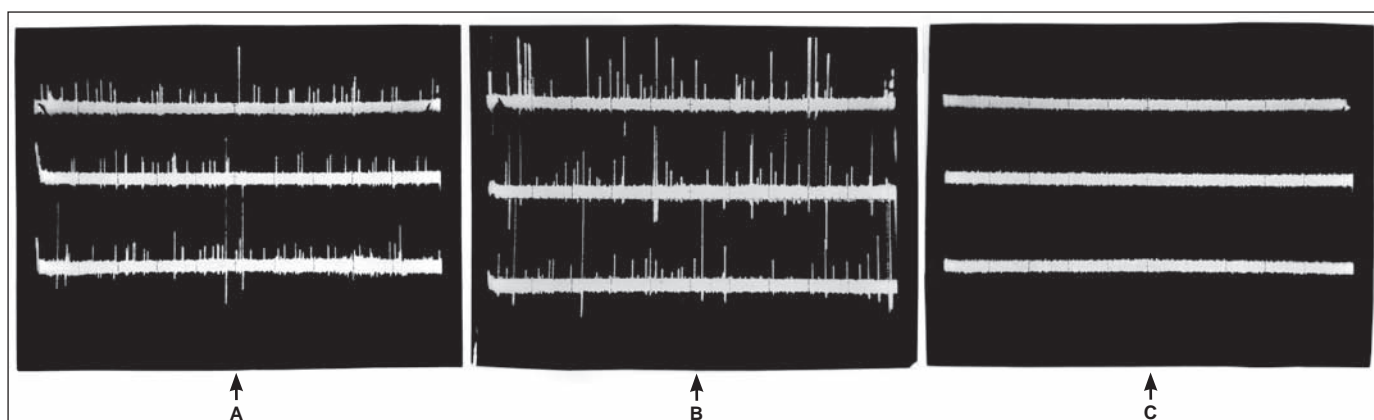


Figura 5 - Efeito da Lidocaína ( $20 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) nos Potenciais de Placa Terminal em Miniatura (PPTM) em Preparação Nervo Frênico-Diafragma de Rato.

A: controle; B: 30 minutos após a adição de lidocaína, C: 60 minutos após a adição de lidocaína.

## DISCUSSÃO

Os efeitos dos anestésicos locais na junção neuromuscular e sua influência no bloqueio produzido por bloqueadores neuromusculares não-despolarizantes é ainda alvo de pouca investigação, no entanto esta interação tem sido observada na prática clínica <sup>2,4-6</sup>.

Esses resultados clínicos foram confirmados em trabalhos experimentais, que têm como maior vantagem, em relação às pesquisas clínicas, a possibilidade de eliminar a grande variabilidade individual de sensibilidade aos bloqueadores neuromusculares <sup>10,17-19</sup>.

O presente estudo, realizado em preparação nervo frênico-diafragma de rato, mostrou que na concentração estudada a lidocaína empregada isoladamente não exerceu efeitos na junção neuromuscular, no entanto potencializou o bloqueio produzido pelo rocurônio. Estes resultados assemelham-se aos de outros autores que também relataram ausência de efeito dos anestésicos locais na transmissão neuromuscular, mas observaram potencialização de diferentes bloqueadores neuromusculares, quando do emprego de anestésicos locais por diferentes vias de administração <sup>4-6,10,17,19</sup>.

Na década de 1950, Ellis e col. <sup>17</sup>, em experimentos realizados em gatos, observaram que a procaína, embora não exercendo efeito na transmissão neuromuscular, intensificou o bloqueio produzido pela d-tubocurarina e succinilcolina, resultados confirmados em outros trabalhos que também relataram ser verdadeira essa interação para outros anestésicos locais e bloqueadores neuromusculares <sup>10,19</sup>. Matsuo e col. <sup>10</sup> avaliaram em preparação nervo frênico-diafragma de rato, a ação da associação da d-tubocurarina a diferentes anestésicos locais como procaína, lidocaína e etidocaína. Observaram que mesmo em concentrações consideradas ineficazes, os anestésicos locais diminuíram de modo significativo a ED<sub>50</sub> dos agentes bloqueadores neuromusculares e que estes, em concentrações eficazes para causar bloqueio neuromuscular, também causaram similar diminuição da ED<sub>50</sub> dos anestésicos locais. Assim, os autores concluíram que a interação bloqueadores neuromusculares-anestésicos locais pode ser conseqüente à potencialização verdadeira, causada pela ação dos dois tipos de drogas, em diferentes locais da junção neuromuscular.

## INFLUENCE OF LIDOCAINE ON THE NEUROMUSCULAR BLOCK PRODUCED BY ROCURONIUM. STUDY IN RAT PHRENIC-DIAPHRAGMATIC NERVE PREPARATION

Em experimentos realizados em gatos, o bloqueio neuromuscular produzido pela associação lidocaína-pancurônio foi 20% maior, com diferença estatística significativa em relação ao observado quando do emprego do pancurônio isoladamente<sup>18</sup>. Similarmente, a lidocaína na dose de 5 mg.kg<sup>-1</sup> administrada por via venosa, também aumentou em 25% o bloqueio neuromuscular produzido pela d-tubocurarina<sup>19</sup>. No homem, os efeitos do vecurônio e do atracúrio foram prolongados pela bupivacaína administrada no espaço peridural, e o rocurônio teve sua duração farmacológica aumentada pela lidocaína administrada por via venosa<sup>4-6</sup>.

A interação entre os anestésicos locais e os bloqueadores neuromusculares não está completamente elucidada, e vários mecanismos podem ser responsáveis pela potencialização observada. Teoricamente esses agentes podem interferir em alguma etapa envolvida na transmissão neuromuscular. Por ação pré-sináptica, os anestésicos locais deprimem seletivamente a condução nas fibras motoras e diminuem a liberação de acetilcolina durante a estimulação nervosa<sup>12,20,21</sup>. Por ação pós-sináptica podem se ligar a diferentes locais específicos de acetilcolina, resultando em dessensibilização desses receptores, além de poderem ocluir temporariamente os canais dos receptores nicotínicos<sup>13,14,22,23</sup>.

A lidocaína pode bloquear completamente a condução nervosa e também deprimir a condução do impulso pré e pós-juncional<sup>24</sup>. Em estudo que correlaciona a estrutura molecular de vários derivados da lidocaína com as suas respectivas propriedades inibitórias da transmissão neuromuscular e com a sua potência anestésica local, foi demonstrado que as propriedades moleculares desses derivados, relacionadas com o comprometimento da transmissão neuromuscular, são similares àquelas envolvidas na ativação de receptores de acetilcolina, e não com as associadas à sua potência anestésica local. Esses resultados sugerem que a lidocaína produz bloqueio neuromuscular por mecanismos distintos do seu mecanismo de ação como anestésico local<sup>24</sup>.

O bloqueio neuromuscular ocasionado pela associação lidocaína-rocurônio foi revertido pela neostigmina e pela 4-aminopiridina. A neostigmina foi menos eficaz do que a 4-aminopiridina na reversão do bloqueio. Com esta última, a amplitude das respostas musculares à estimulação do nervo frênico, ultrapassou a das respostas consideradas como controle. A neostigmina, ao inibir a acetilcolinesterase, aumenta a concentração do neurotransmissor na fenda sináptica sendo capaz de deslocar competitivamente os agentes causadores do bloqueio. A 4-aminopiridina, além do efeito inibidor de dessensibilização de receptores nicotínicos da placa terminal, provoca grande aumento dos quanta de acetilcolina. Esse aumento é resultante de duas ações distintas na membrana das terminações nervosas, a inibição dos canais de potássio, que produz aumento na duração do potencial de ação, e o maior influxo de íons cálcio para as terminações nervosas motoras durante a despolarização da membrana<sup>25-30</sup>. Embora o mecanismo subsináptico pelo qual a 4-aminopiridina aumenta a liberação do transmissor ainda não esteja completamente elucidado, a eficácia da droga como antagonista do bloqueio neuromuscular pré e pós-sináptico tem sido evidenciada em testes experimentais<sup>10,25-31</sup>. No entanto, seu uso na clínica

não é preconizado, pois atravessa facilmente a barreira hematoencefálica com estimulação do sistema nervoso central, podendo causar convulsões<sup>30</sup>.

Na avaliação dos potenciais bioelétricos, observou-se que a lidocaína na concentração empregada não alterou o potencial de membrana das fibras musculares, demonstrando-se, portanto, que não possui ação despolarizante sobre a fibra muscular esquelética. Embora a lidocaína não tenha apresentado efeito sobre a fibra muscular, os estudos dos potenciais bioelétricos evidenciaram que este fármaco na concentração empregada interferiu nos potenciais de placa terminal em miniatura (PPTM). Inicialmente verificou-se aumento na frequência dos PPTM, o que pode ser atribuído à ação pré-sináptica, aumentando a liberação do neurotransmissor, com redução na amplitude, provavelmente devido à ação pós-sináptica.

Os resultados mostraram que a lidocaína na concentração estudada e empregada isoladamente não comprometeu a transmissão neuromuscular, mas potencializou o bloqueio neuromuscular produzido pelo rocurônio. As alterações do potencial de placa terminal em miniatura indicaram ação pré-sináptica, modificando a liberação quantal de acetilcolina; a ausência de alterações no potencial de membrana demonstrou que nesta concentração a lidocaína não possuiu ação despolarizante sobre a fibra muscular e que o provável local de ação é na junção neuromuscular, particularmente na placa motora terminal. O antagonismo completo obtido com a 4-aminopiridina sugeriu que a interação da lidocaína com o rocurônio tem componente pré-sináptico, relacionado à diminuição da liberação de acetilcolina. O antagonismo parcial pela neostigmina suporta essa idéia, uma vez que os anticolinesterásicos são eficazes apenas na reversão do bloqueio pós-sináptico.

É provável que a potência dos anestésicos locais na junção neuromuscular possa diferir entre as diferentes espécies e, embora a extrapolação desses resultados para o homem não seja quantitativamente semelhante, as implicações clínicas dessa interação evidenciaram a necessidade de monitorização do bloqueio neuromuscular e de redução da dose de bloqueadores neuromusculares, quando do uso simultâneo desses agentes.

### ***Influence of Lidocaine on the Neuromuscular Block Produced by Rocuronium. Study in Rat Phrenic-Diaphragmatic Nerve Preparation***

Yolanda Christina S. Loyola, M.D; Angélica de Fátima de Assunção Braga, TSA, M.D; Glória Maria Braga Potério, TSA, M.D; Silmara Rodrigues de Sousa, M.D; Samanta Cristina Antoniassi Fernandes, M.D; Franklin S. da Silva Braga, M.D.

#### **INTRODUCTION**

Pharmacological properties of neuromuscular blockers (NMB), such as onset of action, neuromuscular blockage degree and action length depend on several factors. These factors include: cardiac output, muscle circulatory time,

muscular blood flow, affinity for the action site, power and administered dose<sup>1</sup>. There are also evidences stating that high doses of local anesthetics may compromise neuromuscular transmission and increase neuromuscular blockage produced by a low dose of nondepolarizing and depolarizing neuromuscular blocker<sup>2</sup>.

Local anesthetics, especially aminoamides such as lidocaine and bupivacaine, are pharmaceuticals widely-used at clinical practice in epidural anesthesia associated to general anesthesia. Intravenously administered, lidocaine is used during anesthetic induction to attenuate reflex responses unchained by laryngoscopy and tracheal intubation maneuvers and also as an auxiliary drug to treat cardiac dysrhythmia on intraoperative<sup>2-7</sup>. Rocuronium is a nondepolarizing neuromuscular blocker aminosteroid with a fast onset of action. This feature differentiates rocuronium from other nondepolarizing blockers and also makes it an alternative agent for succinylcholine in situations of rapid sequence induction<sup>7-9</sup>.

Several mechanisms are admitted in order to explain the interaction between local anesthetics and neuromuscular blockers, such as presynaptic action, inhibiting acetylcholine release and postsynaptic action through a postjunctional membrane stabilization, and also interference with the muscular fiber exciting-contraction mechanism<sup>10-14</sup>.

Research studies point to a possible interaction between lidocaine and neuromuscular blockers, increasing the effects of neuromuscular blockers<sup>4,10</sup>. Although local anesthetics produce neuromuscular blockage only at high doses, the interaction with neuromuscular blockers, particularly the nondepolarizing ones, becomes clinically relevant and demands a careful observation when it comes to simultaneous use of these agents or in situations on which the safety margin of neuromuscular transmission is reduced<sup>2,15</sup>.

This study aimed at evaluating the effect of lidocaine on neuromuscular transmission on an experimental model and also assess its influence on neuromuscular blockage produced by rocuronium.

## METHODS

An experimental study was performed with compliance to the ethical principles of the - COBEA (Brazilian Association for Laboratory Animal Science) which were approved by Ethical Commission of Animal Experimentation from Biology Institute UNICAMP (Universidade Estadual de Campinas).

The study was performed with male rats from Wistar lineage, weighing between 250 and 300 g, sacrificed under anesthesia with 10% chloral hydrate (250 mg.kg<sup>-1</sup>) intraperitoneal, injection, and bleeding by means of neck vessels section. Preparation was mounted according to the technique described by Bulbring<sup>16</sup>. The hemidiaphragms with corresponding phrenic nerves were removed and placed on a vat containing 40 mL of Tyrode nourishing solution, composed of the following elements in mM: NaCl 137; KCl 2.7; CaCl<sub>2</sub> 1.8; NaHCO<sub>3</sub> 11.9; MgCl<sub>2</sub> 0.25; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.3, and glucose 11. This solution was constantly aerated with carbogen (95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub>) and kept at 37°C (99°F). The nerve was placed onto platinum electrodes connected to a S48 Grass stimu-

lator. Diaphragm was maintained by its tendinous portion under constant tension (5.0 g), through a wire connected to a Load Cell BG50 GMS isometric transducer, and subjected to an indirect stimulation of 0.1 Hz frequency and lasting 0.2 msec. Tension variations produced by diaphragm contractions were registered on a Gould RS 3400 physiograph. Groups were formed (n = 5), according to the drug added to the preparation: Group I – lidocaine (20 µg.mL<sup>-1</sup>); Group II - rocuronium (4 µg.mL<sup>-1</sup>); Group III - rocuronium (4 µg.mL<sup>-1</sup>) on a preparation previously exposed to lidocaine (20 µg.mL<sup>-1</sup>). On Group III (lidocaine-rocuronium), rocuronium was added to the preparation 30 minutes after the addition of lidocaine. Muscular responses to indirect stimulation were registered during 60 minutes after adding the drugs. To revert the neuromuscular blockage caused by lidocaine-rocuronium association, neostigmine (2 µg.mL<sup>-1</sup>) and 4 aminopyridine (4AP) (20 µg.mL<sup>-1</sup>) were used, added to the preparation 60 minutes after the NMB. The phrenic-nerve preparation was also employed to study the lidocaine effects on miniature endplate potentials and membrane potentials. The assessed items are: 1) the extent of diaphragm muscle response to indirect stimulation, both before and 60 minutes after adding lidocaine; 2) the extent of diaphragm muscle response to indirect stimulation, both before and 60 minutes after adding a neuromuscular blocker; 3) the membrane potentials (MP) and miniature endplate potentials (MEPP); 4) the effectiveness of neostigmine and 4-aminopyridine on neuromuscular block reversal.

The results were expressed on mean and standard deviations. For a statistical analysis, the Mann-Whitney and Wilcoxon tests were used for paired samples. A significant level of 5% ( $\alpha = 5\%$ ) was assumed. The power of test was calculated and a value of  $\beta > 20\%$  was found (power > 80%).

## RESULTS

At the concentration studied and separately used on phrenic-nerve preparation – rat diaphragm, lidocaine did not cause any reduction on the muscular response extent to indirect electrical stimulation

On preparations previously exposed to lidocaine, the blockage produced by rocuronium was 82.8% ± 1.91%, with a significant difference (p = 0.0079) when compared to the blockage produced by rocuronium employed separately (57.8% ± 11.9%), figures 1, 2 and 3, respectively.

Neuromuscular blockage caused by rocuronium on preparations exposed to lidocaine was both partially and fully reversed by neostigmine (Figure 4) and by 4-aminopyridine (Figure 3), respectively.

It was not noted any significant statistical difference on the lidocaine effect on membrane potentials. The effects on miniature endplate potentials initially featured a frequency increase, noted 30 minutes after the addition of the drug, followed by a blockage at 60 minutes (Figure 5).



INFLUENCE OF LIDOCAINE ON THE NEUROMUSCULAR BLOCK PRODUCED BY ROCURONIUM. STUDY IN RAT PHRENIC-DIAPHRAGMATIC NERVE PREPARATION

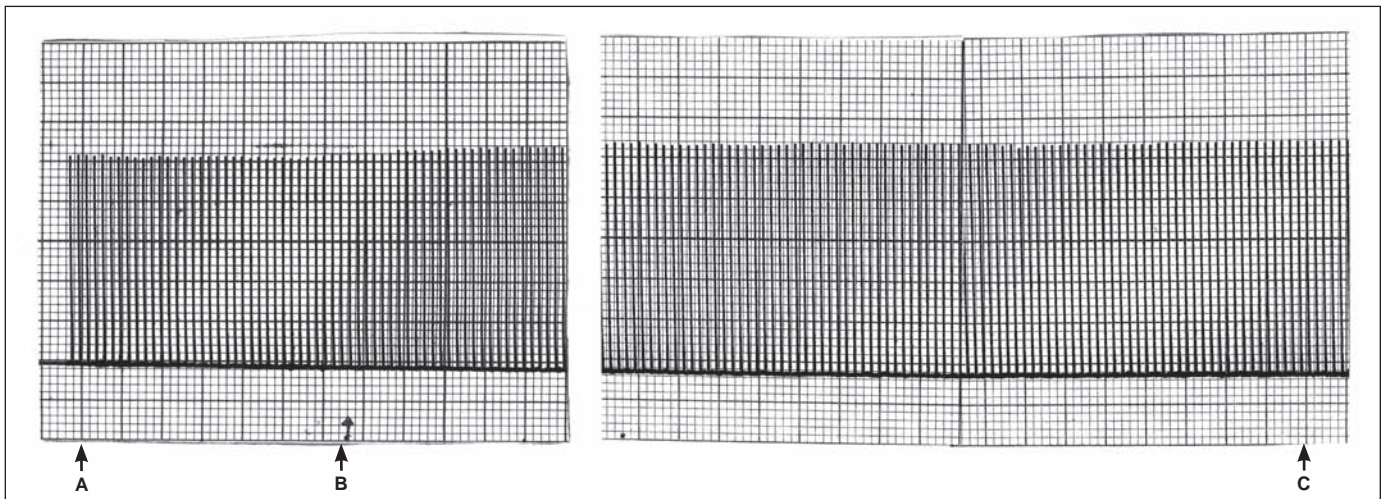


Figure 1 – Lidocaine Effect ( $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) on Muscular Responses to Indirect Stimulation  
A: control; B: lidocaine addition; C: 60 minutes after lidocaine addition.

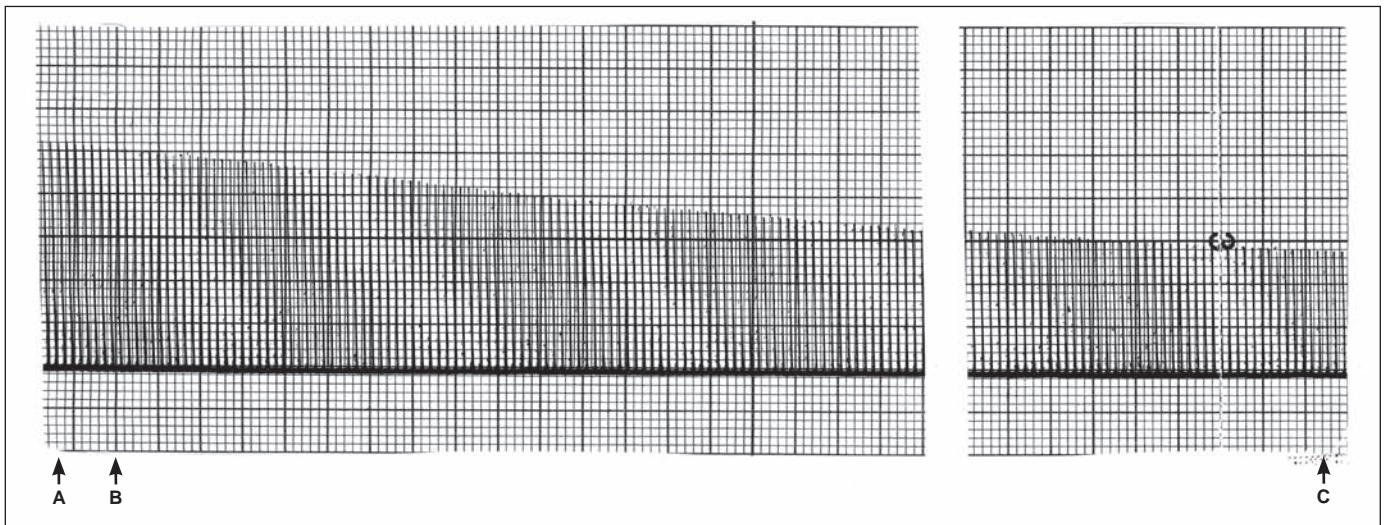


Figure 2 – Rocuronium Effect ( $4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) on Muscular Responses to Indirect Stimulation  
A: control; B: rocuronium addition; C: 60 minutes after rocuronium addition.

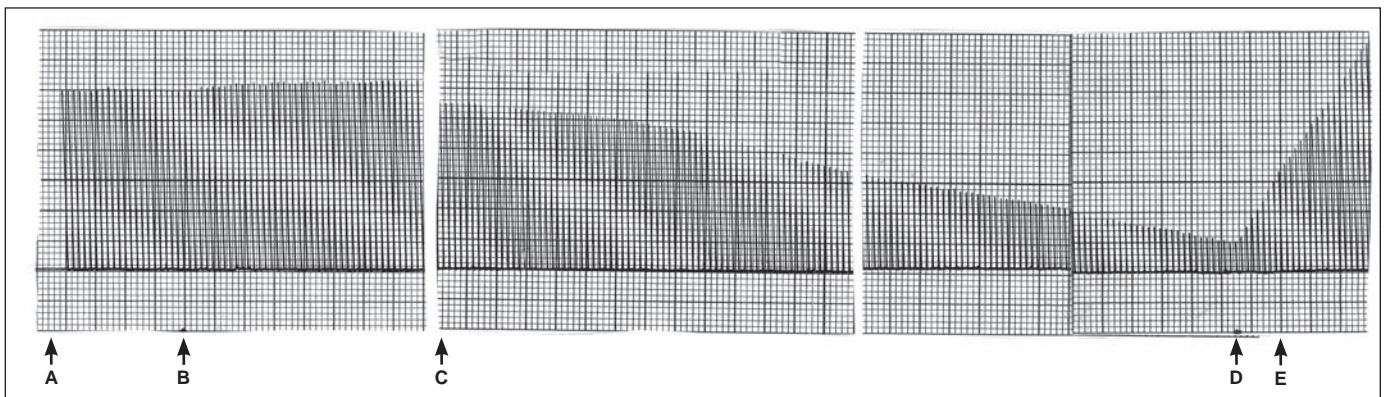


Figure 3 – Rocuronium Effect ( $4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) on Muscular Responses to Indirect Stimulation on Phrenic-Nerve Preparation Rat Diaphragm Exposed to Lidocaine ( $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). 4- Aminopyridine Effect. A: control; B: lidocaine addition; C: rocuronium addition 30 minutes after lidocaine; D: 60 minutes after rocuronium; E: 4 AP ( $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ).



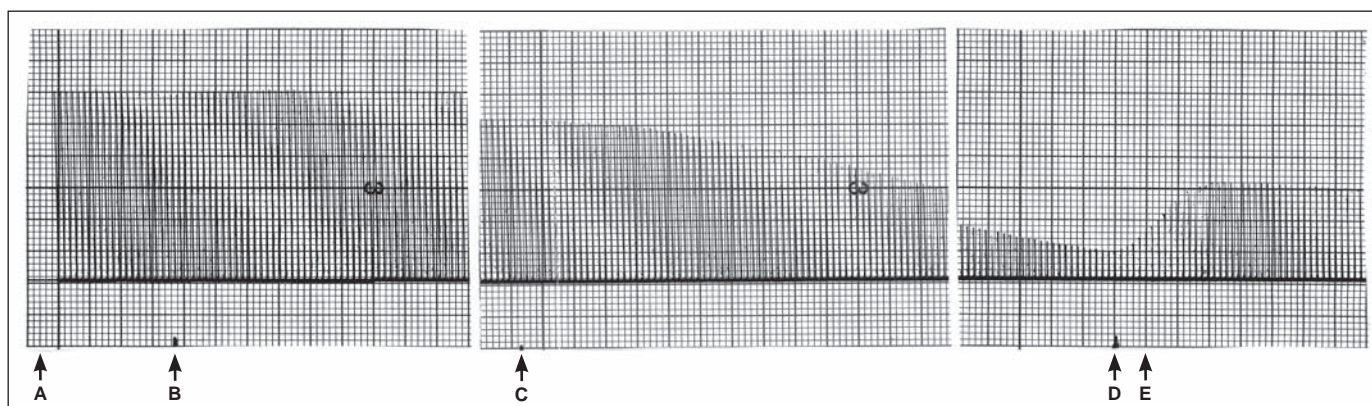


Figure 4 –Rocuronium Effect ( $4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) on Muscular Responses to Indirect Stimulation on Phrenic-Nerve Preparation Rat Diaphragm Exposed to Lidocaine ( $20 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ). Neostigmine Effect.

A: control; B: lidocaine addition; C: rocuronium addition 30 minutes after lidocaine; D: 60 minutes after rocuronium; E: neostigmine ( $20 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ).

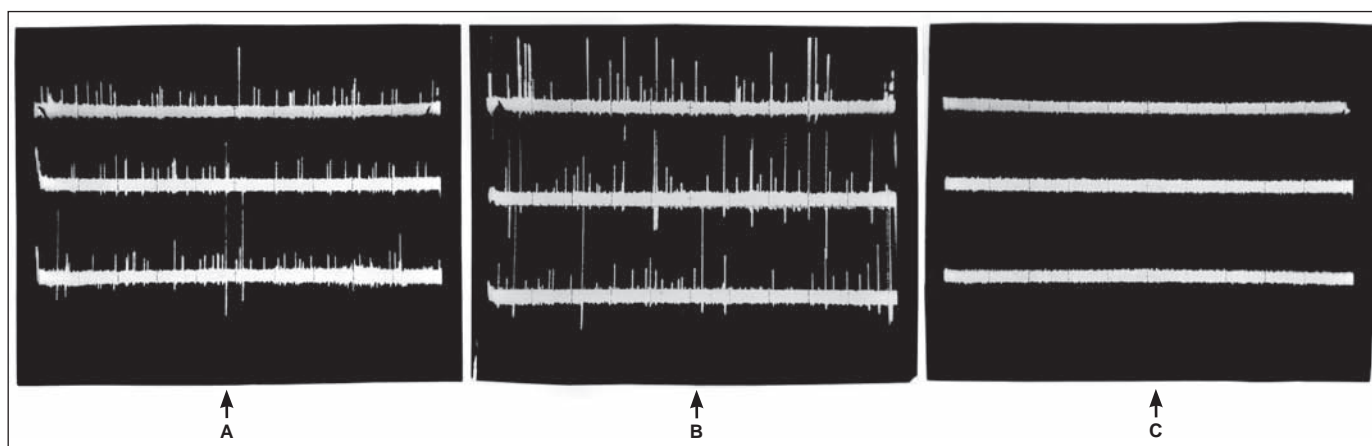


Figure 5 – Lidocaine Effect ( $20 \mu\text{g/mL}$ ) at miniature end-plate potentials (MEPP) on Phrenic-Nerve Preparation Rat Diaphragm. A: control; B: 30 minutes after lidocaine addition, C: 60 minutes after lidocaine addition.

## DISCUSSION

The effects of local anesthetics on neuromuscular junction and its influence on the blockage produced by non-depolarizing neuromuscular blockers are still subjected to few investigations. However, this interaction has been observed on clinical practice <sup>2,4-6</sup>.

These clinical discoveries were confirmed on experimental works, which have as a bigger advantage compared to clinical researches, the possibility to eliminate the enormous individual variability of sensibility to neuromuscular blockers <sup>10,17-19</sup>.

This present study was made on phrenic-nerve preparation – rat diaphragm and showed that lidocaine – at the studied concentration and separately used – did not exert any effects at the neuromuscular junction. However, it increased the blockage produced by rocuronium. These results are similar to the ones found by other authors, since they also reported the absence of effect of local anesthetics on neuromuscular transmission, but they noted an increase of different neuromuscular blockers when local anesthetics were used through other forms of administration <sup>4-6,10,17,19</sup>.

At the 1950 decade, Ellis et al. <sup>17</sup>, were working with experiments performed on cats and noted that procaine, although not having an effect on neuromuscular transmission, enhanced the blocking produced by d-tubocurarine and succinylcholine. These results were confirmed in other works which also reported this interaction as true for other local anesthetics and neuromuscular blockers <sup>10,19</sup>. Matsuo et al. <sup>10</sup> assessed the associated action of d-tubocurarine to different local anesthetics such as procaine, lidocaine e etidocaine using phrenic-nerve rat diaphragm. They noted that even in concentrations considered ineffective, local anesthetics significantly decreased the ED<sub>50</sub> of neuromuscular blockage agents. And those agents, administered in effective concentrations in order to generate neuromuscular blockage, also caused a similar decrease of ED<sub>50</sub> from local anesthetics. Thus, the authors concluded that the interaction between neuromuscular blockers and local anesthetics can be followed by the true increase caused by the action of both types of drug on different spots of neuromuscular junction.

During experiments performed on cats, the neuromuscular blockage produced by lidocaine-pancuronium association



## INFLUENCE OF LIDOCAINE ON THE NEUROMUSCULAR BLOCK PRODUCED BY ROCURONIUM. STUDY IN RAT PHRENIC-DIAPHRAGMATIC NERVE PREPARATION

was 20% higher, with a significant statistical difference when compared to the results observed when pancuronium was employed separately<sup>18</sup>. On a similar way, lidocaine at a 5 mg.kg<sup>-1</sup> intravenous dose increased the neuromuscular blockage produced by d-turbocurarine in 25%<sup>19</sup>. On human beings, the effects of vecuronium and atracurium were extended by bupivacaine administrated on the epidural space. Rocuronium has its pharmacological duration increased by intravenous lidocaine administration<sup>4-6</sup>.

The interaction between local anesthetics and neuromuscular blockers is not complacently explained and several mechanisms can be held responsible for the potentiation once observed. Theoretically, these agents may interfere in some stage involved on neuromuscular transmission. Through presynaptic action, local anesthetics selectively depress conduction on motor fibers and diminish the acetylcholine release during nervous stimulation<sup>12,20,21</sup>. By means of a presynaptic action, they may be able to connect to different specific acetylcholine sites. It results on desensibilization of these receptors, and they also can occlude the nicotine receptors channels on a temporary basis<sup>13,14,22,23</sup>.

Lidocaine may completely block nerve conduction and also depress the conduction of both pre and postjunctional impulse<sup>24</sup>. A study correlates the molecular structure of several lidocaine derivatives with its respective neuromuscular transmission inhibitory properties and with its local anesthetic power. The research shows that molecular properties of these derivatives related with the compromise of neuromuscular transmission are similar to the properties involved on acetylcholine receptors activation and not with the properties associated with its local anesthetic power. These results indicate that lidocaine produces neuromuscular blockage by means of mechanisms diverse than its action mechanism as a local anesthetic<sup>24</sup>.

Neuromuscular blockage caused by lidocaine-rocuronium association was reversed by neostigmine and 4-aminopiridine. Neostigmine was less effective than 4-aminopiridine to reverse the blockage. With the latter, the extent of muscular response to phrenic nerve stimulation exceeds the extent of responses considered as a control group. When neostigmine inhibits acetyl cholinesterase, it increases the neurotransmitter concentration on synaptic gap, being able to competitively dislocate the agents causing blockage. Besides the inhibitor effect of endplate nicotine receptors desensibilization, 4-aminopiridine causes a huge increase on the acetylcholine quanta. This increase comes from two distinct actions on nerve-ending membranes: inhibition of potassium channels, which increases the lasting of action potential and a greater inflow of calcium ions to motor nerve-endings during the membrane depolarization<sup>25-30</sup>. Although the subsynaptic mechanism by which 4-aminopiridine increases the transmitter release is not fully explained yet, the effectiveness of the drug as an antagonist of both pre and postsynaptic neuromuscular blockage has been proved on experimental tests<sup>10,25-31</sup>. However, its clinical use is not advocated since it easily crosses the blood-brain barrier with central nervous system stimulation and may cause convulsions<sup>30</sup>.

When evaluating bioelectrical potentials, it was noted that the employed concentration of lidocaine does not change

the membrane potential of muscular fibers. Therefore, it proves that lidocaine does not present a depolarizing action over skeletal muscle fiber. Although lidocaine did not have any effect over muscle fiber, the studies on bioelectrical potential proved that, on the concentration employed, this drug does interfere on miniature endplate potentials (MEPP). Initially an increase on MEPP frequencies was verified, which can be attributed to presynaptic action increasing the neurotransmitter release and reducing its extent, probably due to postsynaptic action.

Results show that lidocaine – at the studied concentration and separately employed – did not compromise neuromuscular transmission, but increased the neuromuscular blockage produced by rocuronium. Changes on miniature endplate potentials indicate a presynaptic action altering the acetylcholine quanta release. The absence of changes on membrane potential demonstrates that on this concentration, lidocaine does not have a depolarizing action over muscle fiber and that the probable action site is at neuromuscular junction, particularly on motor endplate. The full antagonism obtained with 4-aminopiridine indicates that interaction between lidocaine and rocuronium has a presynaptic component related to the acetylcholine release decreasing. The partial antagonism of neostigmine supports this idea, since the anticholinesterasics are only effective at the postsynaptic blockage reversal.

It is probable that the power of local anesthetics on neuromuscular junction may differ between different species and, although the extrapolation of these results to the human species is not quantitatively similar, the clinical implications of this interaction make evident the need to monitor neuromuscular blockage and also reduce the dose of neuromuscular blockers when simultaneously used with those agents.

### REFERÊNCIAS – REFERENCES

01. Donati F - Onset of action of relaxants. *Can J Anesth*, 1988;35: S52-S58.
02. Telivuo L, Katz RL - The effects of modern intravenous local analgesics on respiration during partial neuromuscular block in man. *Anesthesia*, 1970;25:30-35.
03. Hamaya Y, Dohi S - Differences in cardiovascular response to airway stimulation at different sites and blockade of the response by lidocaine. *Anesthesiology*, 2000;93:95-103.
04. Cardoso LSM, Martins CR, Tardelli MA - Efeitos da lidocaína por via venosa sobre a farmacodinâmica do rocurônio. *Rev Bras Anesthesiol*, 2005;55:371-380.
05. Toft P, Kirkegaard Nielsen H, Severinsen I et al - Effect of epidurally administered bupivacaine on atracurium-induced neuromuscular blockade. *Acta Anesthesiol Scand*, 1990;34:649-652.
06. Taivainen T, Meretoja OA, Rosenberg PH - The effect of epidural bupivacaine on vecuronium-induced neuromuscular blockade in children. *Acta Anesthesiol Scand*, 1994;38:453-456.
07. Yorukoglu D, Asik Y, Okten F - Rocuronium combined with iv lidocaine for rapid tracheal intubation. *Acta Anesthesiol Scand*, 2003;47:583-587.
08. Engbaek J, Viby-Mogensen J - Can rocuronium replace succinylcholine in a rapid-sequence induction of anesthesia? *Acta Anesthesiol Scand*, 1999;43:1-3.
09. Andrews JI, Kumar N, van den Brom RH et al - A large simple

- randomized trial of rocuronium versus succinylcholine in rapid-sequence induction of anesthesia along with propofol. *Acta Anaesthesiol Scand*, 1999; 43:4-8.
10. Matsuo S, Rao DB, Chaudry I et al - Interaction of muscle relaxants and local anesthetics at the neuromuscular junction. *Anesth Analg*, 1978;57:580-587.
  11. Usubiaga JE, Wikinski JA, Morales RL et al - Interaction of intravenously administered procaine, lidocaine and succinylcholine in anesthetized subjects. *Anesth Analg*, 1967;46:39-45.
  12. Straughan DW - The action of procaine at the neuromuscular junction. *J Pharm Pharmacol*, 1971;41: 94-104.
  13. Sine SM, Taylor P - Local anesthetics and histrionicotoxin are allosteric inhibitors of the acetylcholine receptor. *J Biol Chem*, 1982;257:8106-8114.
  14. Neher E, Steinbach JH - Local anesthetics transiently block currents through single acetylcholine-receptor channels. *J Physiol*, 1978; 277:153-176.
  15. Pederneiros SG - Interação de drogas com relaxantes musculares. *Rev Bras Anesthesiol*, 1988; 38:63-73.
  16. Bulbring E - Observation on the isolated phrenic nerve diaphragm preparation of the rat. *Br J Pharmacol*, 1946;1:38-61.
  17. Ellis CH, Wnuck AL, De Beer EJ et al - Modifying actions of procaine on the myoneural blocking actions of succinylcholine, decamethonium and d-tubocurarine in dogs and cats. *Am J Physiol*, 1953; 174:277-282.
  18. Carpenter RL, Mulroy MF - Edrophonium antagonize combined lidocaine-pacuronium and verapamil-pancuronium neuromuscular blockade in cats. *Anesthesiology*, 1986;65:506-510.
  19. Harrah MD, Way WL, Katzung BG - The interaction of d-tubocurarine with antiarrhythmic drugs. *Anesthesiology*, 1970;33:406-410.
  20. Matthews EK, Quilliam JP - Effects of central depressant drugs upon acetylcholine release. *Br J Pharmacol Chemother*, 1964;22:415-440.
  21. Usubiaga JE, Standaert F - The effects of local anesthetics on motor nerve terminals. *J Pharmacol Exp Ther*, 1968;159:353-361.
  22. Ruff RL - The kinetics of local anesthetic blockade of end-plate channels. *Biophys J*, 1982;37:625-631.
  23. Cohen JB, Boyd ND, Shera NS - Interactions of Anesthetics with Nicotinic Postsynaptic Membranes Isolated from Torpedo Electric Tissue. em: Fink BR - *Molecular Mechanisms of Anesthesia*. Progress in Anesthesiology. New York: Raven Press, 1980: 165-174.
  24. Steinbach AB - Alteration of xylocaine (lidocaine) and its derivatives of the time course of the end plate potential. *J Gen Physiol*, 1968;52:144-161.
  25. Yeh JZ, Oxford GS, Wu CH et al - Interactions of aminopyridines with potassium channels of squid axon membranes. *Biophys J*, 1976;16:77-81.
  26. Ulbricht W, Wagner HH - Block of potassium channels of the nodal membrane by 4-aminopyridine and its partial removal on depolarization. *Pflugers Arch*, 1976;367:77-87.
  27. Brazil OV, Fontana MD, Pavani NJ - . Effect of 4-aminopyridine on the postsynaptic action of polymyxin B. *Eur J Pharmacol*, 1989;159:47-51.
  28. Vital Brazil O, Fontana MD, Pavani NJ - Effect of 4-aminopyridine on end-plate receptor desensitization caused by carbachol. *Eur J Pharmacol*, 1982;86:199-205.
  29. Harvey AL, Marshall IG - The facilitatory actions of aminopyridines and tetraethylammonium on neuromuscular transmission and muscle contractility in avian muscle. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 1977;299:53-60.
  30. Harvey AL, Marshall IG - The actions of three diaminopyridines on the chick biventer cervicis muscle. *Eur J Pharmacol*, 1977;44:303-309.
  31. Bowman WC, Harvey AL, Marshall IG - The actions of aminopyridines on avian muscle. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 1977;297:99-103.

## RESUMEN

Loyola YCS, Braga AFA, Potério GMB, Sousa SR, Fernandes SCA, Braga FSS – Influencia de la Lidocaína en el Bloqueo Neuromuscular Producido por el Rocuronio. Estudio en Preparación Nervio Frénico-Diafragma de Ratón.

**JUSTIFICATIVA Y OBJETIVOS:** *El mecanismo de acción de los anestésicos locales (AL) en la unión neuromuscular motivó la realización de varios estudios. Con dosis bajas, los mismos no interfieren en la transmisión neuromuscular, altas dosis pueden comprometer la transmisión neuromuscular y potenciar los efectos de bloqueadores neuromusculares. El objetivo del estudio fue evaluar en diafragma de ratón, la interacción entre la lidocaína y el rocuronio a través de la influencia en el grado del bloqueo neuromuscular.*

**MÉTODO:** *Fueron utilizados ratones, con peso entre 250 y 300 g. La preparación fue montada de acuerdo con la técnica descrita por Bulbring. Se formaron grupos (n = 5) de acuerdo con la droga en estudio: lidocaína – 20 µg.mL<sup>-1</sup> (Grupo I); rocuronio – 4 µg.mL<sup>-1</sup> (Grupo II) y rocuronio – 4 µg.mL<sup>-1</sup> con lidocaína – 20 µg.mL<sup>-1</sup> (Grupo III). Fueron evaluados: 1) la amplitud de las respuestas del músculo diafragma a la estimulación indirecta, antes y 60 minutos después de la adición de la lidocaína y del bloqueador neuromuscular; 2) los potenciales de membrana (PM) y potenciales de placa terminal en miniatura (PPTM); 3) la eficacia de la neostigmina y 4) aminopiridina en la reversión del bloqueo neuromuscular.*

**RESULTADOS:** *La lidocaína aisladamente no cambió la amplitud de las respuestas musculares. Con el uso previo de lidocaína, el bloqueo neuromuscular del rocuronio fue del 82,8% ± 1,91%, con diferencia significativa (p = 0,0079) con relación al grupo con rocuronio aislado (57,8% ± 1,9%). El bloqueo fue parcial y totalmente revertido por la neostigmina y la 4-aminopiridina, respectivamente. La lidocaína no cambió el potencial de membrana y causó un aumento inicial en la frecuencia de los PPTM, seguido de bloqueo.*

**CONCLUSIONES:** *La lidocaína potenció el bloqueo neuromuscular que el rocuronio produjo. Los cambios del PPTM identifican una acción presináptica. El antagonismo completo de la 4-aminopiridina sugiere un componente presináptico, idea apoyada por el antagonismo parcial de neostigmina.*