

Evaluación del Uso de Microesferas de Bupivacaína en Exceso Enantiomérico del 50% después del Bloqueo del Nervio Ciático de Ratonés

Rohnelt Machado de Oliveira ¹, Pedro Paulo Tanaka ², Sergio Bernardo Tenorio ³

Resumen: Oliveira RM, Tanaka PP, Tenório SB – Evaluación del Uso de Microesferas de Bupivacaína en Exceso Enantiomérico del 50% después del Bloqueo del Nervio Ciático de Ratonés.

Justificativa y objetivos: Alcanzar mejores beneficios terapéuticos de los anestésicos locales en el control del dolor postoperatorio a través de portadores de liberación controlada. Este estudio quiso establecer la comparación de las características de los bloqueos sensitivo y motor entre las microesferas sin anestésico local; microesferas con bupivacaína racémica encapsulada; microesferas con bupivacaína en exceso enantiomérico al 50% y bupivacaína en exceso enantiomérico al 50% sin las microesferas.

Método: Se usaron ratones (Wistar) divididos en cuatro grupos: A (Microesfera); B (Microesfera de bupivacaína S50-R50); C (Microesfera de Bupivacaína en exceso enantiomérico de 50%); D (Bupivacaína en exceso enantiomérico de 50%). La anestesia inhalatoria fue realizada previamente al bloqueo del nervio ciático (halotano al 2% y O₂ al 100%). El bloqueo sensorial se midió por el tiempo exigido para que cada ratón retirase la pata de una placa caliente a 56°C (positivo > 4 s). El bloqueo motor fue medido por el tiempo entre la inyección del medicamento hasta la recuperación de la puntuación 2 de criterio establecido.

Resultados: En los grupos B, C y D la respuesta sensitiva fue significativamente más frecuente que en el Grupo A ($p < 0,001$). Entre los Grupos B, C y D no se observaron diferencias estadísticamente significativas de respuesta positiva al test sensitivo ($p > 0,05$). En los Grupos B, C y D, la respuesta al test motor también fue significativamente más frecuente que en el grupo A ($p = 0,02$). En los Grupos B y D, se observó una tendencia a una mayor positividad para el test motor que en el Grupo C ($p = 0,10$).

Conclusiones: La liberación controlada de microesfera de bupivacaína en exceso enantiomérico de 50%, presentó un resultado similar con relación a la analgesia cuando se le comparó con las otras formulaciones anestésicas y un menor bloqueo motor.

Descriptores: ANESTÉSICOS, Local, bupivacaína; ANIMAL, Ratón; DOLOR, Postoperatoria.

©2011 Elsevier Editora Ltda. Reservados todos los derechos.

INTRODUCCIÓN

Los bloqueos de conducción nerviosa son un buen medio para proveer la analgesia postoperatoria. Sin embargo, su utilidad está limitada por la corta duración del efecto de los anestésicos locales. El anestésico local ideal debería tener una larga duración de acción y una baja toxicidad, propiedades que no están presentes en los actuales productos disponibles para uso clínico ¹. Han sido desarrollados nuevos

anestésicos locales capaces de proveer bloqueos nerviosos prolongados, sin embargo, por presentar una elevada toxicidad sistémica, no se aceptaron ^{2,3}.

Con la ayuda de catéteres se puede infundir anestésicos locales de modo continuo y prolongar su acción indefinidamente, pero existe un aumento en los riesgos de complicaciones provenientes de la absorción sanguínea. La adición al anestésico local de medicamentos que atrasen la absorción, como la adrenalina, o que potencien el efecto, como los opiáceos, no traen beneficios evidentes y contribuyen para el aumento de los riesgos de toxicidad de los efectos colaterales de los propios agentes adicionados ⁴⁻⁶. A partir de la década de 1990, se desarrollaron sistemas de depósito como los liposomas, ciclodextrinas y microesferas que liberan medicamentos de modo lento y continuo ⁷ y extienden la duración de los efectos.

Entre esos sistemas, las microesferas pueden tener un perfil adecuado para el uso con los anestésicos locales. Se trata de polímeros biodegradables y mecánicamente estables con diámetros suficientemente pequeños para permitir que los medicamentos encapsulados sean transportados hasta el tejido nervioso por agujas comunes ⁸⁻¹². Las microesferas, a su vez, liberan la droga que ya está en el interior del organis-

Recibido del Postgrado en Cirugía (Anestesiología) de la Universidade Federal do Paraná (UFPR), Brasil.

1. Anestesiología; Doctor en Cirugía por la UFPR; Anestesiólogo del Hospital Nossa Senhora das Graças

2. MD, PhD; Clinical Associate Professor Stanford University School of Medicine

3. Profesor Adjunto de Anestesiología de la UFPR; Responsable del CET del Hospital de Clínicas de la UFPR

Artículo sometido el 24 de enero de 2010.

Aprobado para su publicación el 25 de julio de 2011.

Dirección para correspondencia:
Dr. Rohnelt Machado de Oliveira
Rua Campos Sales 220/1303
80030230 – Curitiba, PR, Brasil
E-mail: rohnelt_oliveira@uol.com.br

mo, en pequeñas y controladas dosis diarias, de acuerdo con la forma que fue proyectada, durante días.

Los sistemas de liberación controlada de los fármacos ofrecen innumerables ventajas cuando son comparados con los sistemas convencionales de administración de fármacos, tales como: a) una mayor eficacia terapéutica, con la liberación progresiva y controlada del fármaco a partir de la degradación de la matriz; b) disminución significativa de la toxicidad y un mayor tiempo de permanencia en la circulación; c) variada naturaleza y composición de los vehículos y, al contrario de lo que se podría esperar, no predominan los mecanismos de inestabilidad y descomposición del fármaco (bio-inactivación prematura); d) administración segura (sin reacciones inflamatorias locales) y conveniente (menor número de dosis); e) direccionamiento a blancos específicos, sin la inmovilidad significativa de las especies bioactivas; f) tanto las sustancias hidrofílicas como las lipofílicas pueden ser incorporadas.

La gran mayoría de los anestésicos locales amino-amidas usados clínicamente son compuestos quirales. Tienen un carbono asimétrico adyacente al grupo amina y así es como existen bajo la forma de isómeros, que son la imagen especular uno del otro. Se distinguen los isómeros (D) destrorrotatorios y los isómeros (L) levorrotatorios. La bupivacaína en exceso enantiomérico de 50% está compuesta por una mezcla con exceso enantiomérico en la relación de un 75% de componente levógiro y un 25% de componente dextrógiro. La estereoselectividad es un factor importante para disminuir la cardiotoxicidad de la bupivacaína.

Este estudio quiso comparar las características de los bloques sensitivo y motor entre las microesferas sin anestésico local; microesferas con bupivacaína racémica encapsulada; microesferas con bupivacaína en exceso enantiomérico 50%, y bupivacaína en exceso enantiomérico 50% sin las microesferas.

MATERIALES Y MÉTODOS

De acuerdo con las normas del COBEA (Colegio Brasileño de Experimentación Animal), se estudiaron ratones machos de la raza Wistar, que pesaban entre 200 g y 350 g después de la aclimatación durante ocho días en un ambiente calentado a 21°C y con una humedad del aire de cerca de un 55%, con la reproducción del ciclo día-noche para evitar la modificación en el ritmo circadiano de los animales. Creamos aleatoriamente, cuatro grupos con ocho ratones divididos de acuerdo con el tipo de solución utilizada en el nervio ciático:

- Grupo A: solamente las microesferas sin el anestésico local;
- Grupo B: microesferas con bupivacaína racémica encapsulada;
- Grupo C: microesferas con bupivacaína en exceso enantiomérico 50%;
- Grupo D: solamente la bupivacaína en exceso enantiomérico 50% sin las microesferas.

Bajo anestesia general con halotano en oxígeno por máscara y ventilación espontánea, los ratones se pusieron en decúbito lateral y fue realizado el bloqueo del nervio ciático, teniendo como referencia el surco localizado por la palpación entre la cabeza del gran trocánter del fémur y la tuberosidad isquiática. El nervio fue identificado por la introducción en el surco de una aguja 24 de teflón (Stimuplex, B. Braun, Melsungen, Germany [Alemania]), unida a un estimulador de nervio (DigiStim II, NeuroTechnology, Houston, Tex).

La proximidad de la punta de la aguja en el nervio ciático durante el bloqueo fue confirmada por una contracción muscular visible de la pata, con una intensidad de estímulo de 0,2 mA. El volumen de la inyección fue de 0,5 mL en una jeringuilla de insulina, de una solución de 3,175% de cloridrato del anestésico local en los grupos B y C. En los grupos A y D, se inyectó el mismo volumen de 0,5 mL que contenía solamente microesferas o anestésico local. La jeringuilla de insulina se acopló a la aguja de punción con el espacio muerto previamente relleno por la solución a ser estudiada. Las microesferas liofilizadas fueron diluidas en agua destilada y mezcladas a una velocidad máxima de 2 minutos antes de la inyección. Otro investigador manipuló previamente los fármacos. Después del bloqueo, los animales se pusieron en jaulas. Las microesferas que contenían la bupivacaína en exceso enantiomérico fueron preparadas con base en una metodología descrita anteriormente¹³.

La evaluación del bloqueo sensorial¹⁴: El bloqueo sensorial se midió por el tiempo requerido para que cada ratón retirase su pata de una placa a 56°C de temperatura. La placa caliente estaba equipada con un diodo que emite con exactitud $\pm 0,1^\circ\text{C}$. Además de la exactitud del diodo, se usó también un termómetro. Los ratones intactos, no anestesiados, retiran su pata de la placa entre uno a tres segundos. Ellos fueron envueltos en un paño colocado delicadamente por encima de la cadera, con la finalidad de contener las extremidades superiores y de obstruir su visión. Los ratones fueron posicionados para estar con una pata posterior por encima de la placa caliente y la otra contralateral colocada en un bloque de madera a temperatura normal. Las patas posteriores estuvieron expuestas en orden (izquierda y después derecha), a la placa caliente. Alternando los lados, la pata contralateral sirve como un control en el estudio para detectar los efectos analgésicos sistémicos potenciales o la analgesia de estrés inducida. La latencia para retirar cada pata de la placa caliente se grabó, alternando las patas y permitiendo por lo menos 15 segundos de recuperación entre cada medida. La experimentación fue finalizada después de 12 segundos para los casos en que no hubo reacción del animal a la placa caliente. Para no causar heridas o la hiperalgesia, el tiempo fue registrado; además de ser considerados cuatro segundos como test positivo.

Respuesta al posicionamiento¹⁴: Cuando el ratón está en la posición normal de descanso, los dedos de las patas están flexionados sobre el dorso. Se evaluó su habilidad para repositionar la pata trasera y los dedos. Los ratones fueron colocados en posición de pronación con las patas traseras estiradas hacia atrás (con el dorso en contacto con la superficie firme). La respuesta se evaluó de acuerdo con los siguientes

criterios: a) la pata trasera vuelve a su posición original con las garras abiertas (dorsiflexión o abducción y extensión de las garras); b) la pata trasera vuelve a la posición original, sin embargo las garras están cerradas (dorsiflexión y garras parcialmente flexionadas y aducidas); c) la pata trasera no vuelve totalmente a la posición original (falta de habilidad para abrir y extender las garras); d) la pata trasera permanece y las garras están cerradas (denota bloqueo motor). No se midió el tiempo de duración del bloqueo motor. La evaluación del bloqueo sensitivo y la presencia de bloqueo motor se repitieron diariamente en el mismo horario. Se tuvieron en cuenta para el resultado positivo los animales que tenían criterios c y d.

El 2º, 4º, 6º, 8º días del experimento, un animal de cada grupo se seleccionaba. Después de la anestesia general con halotano, era realizada la punción cardíaca y retiradas las muestras de sangre para la evaluación de la concentración plasmática del anestésico local. La eutanasia fue realizada con la inyección intraperitoneal de 70 mg.kg⁻¹ de tiopental sódico inmediatamente después de la recogida de la sangre.

Análisis estadístico: se trata de un estudio experimental, prospectivo y longitudinal del análisis del bloqueo motor y sensitivo de la bupivacaína en exceso enantiomérico de un 50% (S75-R25) transmitida en las microesferas. Todos los datos fueron obtenidos prospectivamente por el investigador en la evaluación de los animales, y registrados en el instrumento de recolección de datos elaborado por el autor. Los datos fueron tecleados en una planilla electrónica (Excel), comprobados y exportados para el programa Statistica.

El modelo Anova de Kruskal-Wallis se aplicó para evaluar la diferencia de las medidas de naturaleza continua de distribución asimétrica (test sensitivo), en los diferentes grupos. Para todos fueron utilizados los testes bicaudales, conside-

rando que las diferencias podrían estar distribuidas para ambos lados de la curva, con un nivel de significancia mínimo de un 5%. El tamaño de la muestra fue estimado considerando un error de tipo I de un 5% (alfa) y un error del tipo II de un 10%, con un poder de test estimado mínimo del 90%. No se esperaba una diferencia significativa con relación a las características estudiadas comparando las dos soluciones de anestésicos locales distribuidas en microesferas.

RESULTADOS

La evaluación del bloqueo sensorial demostró que después de la infiltración del AL en el nervio ciático de ratones, ocurrió un aumento del umbral del dolor de los animales con todas las formulaciones anestésicas estudiadas (Grupos B, C, D), siendo estadísticamente diferente del Grupo (A) control ($p < 0,001$). Sin embargo, las comparaciones entre los Grupos B, C y D demostraron perfiles de bloqueo sensorial similares ($p > 0,05$). La inyección de AL en la forma de microesferas en concentraciones diferentes, no conllevó a un aumento en la duración de la analgesia y en la intensidad del efecto cuando se le comparó al AL libre (Tabla I).

Evaluación del bloqueo motor

Las comparaciones entre las formulaciones anestésicas demostraron la pérdida reversible de los reflejos motores en los animales utilizados, evidenciando una menor intensidad del bloqueo motor en el grupo (C), (microesfera de bupivacaína en exceso enantiomérico de 50%) (Tabla II).

Tabla I – Resumen de los Test Sensitivo y Motor, y Concentraciones Plasmáticas de los Anestésicos Locales

Grupo	Día ¹	Test Sensitivo ²	Test Motor ²	Concentración Plasmática ³
A	2.º	1	1	ND
	4.º	1	1	ND
	6.º	1	1	ND
	8.º	1	1	ND
B	2.º	8	1	78 ng.mL ⁻¹
	4.º	1	1	ND
	6.º	2	1	ND
	8.º	1	1	ND
C	2.º	5	1	ND
	4.º	2	1	255,70 ng.mL ⁻¹
	6.º	1	1	136,60 ng.mL ⁻¹
	8.º	1	1	81,6 ng.mL ⁻¹
D	2.º	1	1	ND
	4.º	1	1	ND
	6.º	1	1	ND
	8.º	1	1	ND

1: día de la eutanasia del animal; 2: test medidos en segundos; 3: ND: no detectado en concentraciones > 50 ng.mL⁻¹ de plasma.

Evaluaciones de las concentraciones del fármaco en el plasma

Los animales que recibieron la bupivacaína en exceso enantio mérico de un 50% en microesferas, tenían concentraciones plasmáticas por encima de 50 ng.dL⁻¹ hasta el 8º día. Aunque la concentración plasmática de bupivacaína en el Grupo C haya sido superior a la concentración de bupivacaína en el Grupo B, las diferencias registradas en el test sensitivo (cinco segundos para el Grupo C y ocho segundos para el Grupo B en el 2º día), no fueron proporcionales a la concentración plasmática de la droga. En contrapartida, al momento de la no detección de la presencia de bupivacaína en el plasma en el Grupo B, interfirió directamente sobre el bloqueo nervioso y fue comprobado por el aumento de la sensibilidad del animal sobre la placa caliente (Tabla III).

DISCUSIÓN

La evaluación de los riesgos y de los beneficios de las microesferas fue el objetivo de esta investigación. Las microes-

feras son polímeros biodegradables con diámetros entre 1 µm y 50 µm que pueden incorporar varias drogas. Las microesferas se diferencian entre sí por el tipo de polímero utilizado y las utilizadas en el presente estudio recibieron el co-polímero de ácido poliláctico-co-glicólico (PLGA), que posee la capacidad de contener una mayor cantidad de medicamentos y de prolongar la duración del efecto¹⁵. Los polímeros de PLGA son degradados en monómeros ácidos (ejemplo: ácido láctico y glicólico) y eliminados del organismo bajo la forma de dióxido de carbono y agua^{16,17}. Los anestésicos incorporados a las microesferas deben ser liofilizados y posteriormente reconstituidos en una solución acuosa para su uso. Gracias al pequeño diámetro, las microesferas pueden ser introducidas a través de agujas hipodérmicas hasta la proximidad del tejido nervioso¹⁸, por donde el anestésico local u otra droga utilizada se difunden por los microporos, y pueden producir un efecto farmacológico prolongando¹⁹.

Los ratones de la clase Wistar fueron utilizados en este trabajo por diversos motivos: son animales comunes en muchos experimentos, lo que facilita la comparación entre los varios trabajos. Poseen ciclos de vida cortos y una uniformidad genética. Los machos fueron escogidos por presentar menos

Tabla II – Respuesta Comparada al Test Sensitivo en los Grupos A, B, C, y D

	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D	p
1º día	1,00 (1,00-2,00)	7,00 (1,00-12,00)	2,50 (1,00-12,00)	5,50 (1,00-12,00)	0,004*
2º día	1,00 (1,00-2,00)	4,00 (1,00-12,00)	3,50 (1,00-10,00)	2,00 (1,00-12,00)	0,01*
3º día	1,00 (1,00-1,00)	1,00 (1,00-1,00)	1,00 (1,00-4,00)	1,00 (1,00-3,00)	0,03*
4º día	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (1,00-2,00)	0,88
5º día	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (1,00-1,00)	0,47
6º día	1,00 (1,00-1,00)	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (1,00-1,00)	0,55
7º día	1,00 (1,00-1,00)	1,00 (1,00-1,00)	1,00 (1,00-1,00)	1,00 (1,00-1,00)	1
8º día	1,00 (1,00-1,00)	1,00 (1,00-1,00)	1,00 (1,00-1,00)	1,00 (1,00-1,00)	1

Anova de Kruskal-Wallis; *: A B, C, D; no se observa diferencia entre B, C, D.

Tabla III – Respuesta Comparada al Test Motor en los Grupos A, B, C y D

	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D	p
1º día	08 (38,10%)	04 (19,05%)	05 (23,81%)	04 (19,05%)	0,05*
2º día	16 (30,19%)	12 (22,64%)	15 (28,30%)	10 (18,87%)	0,03**
3º día	14 (100,00%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	< 0,01
4º día	12 (100,00%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	< 0,01
5º día	10 (100,00%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	< 0,01
6º día	08 (100,00%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	< 0,01
7º día	06 (100,00%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	< 0,01
8º día	04 (100,00%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	00 (0,0%)	< 0,01

Test Xi-Cuadrado (Xi²) de Pearson – A es diferente de B, C y D – A es diferente de B y D. – C es diferente de D.

alteraciones hormonales que las hembras. Esos animales se mantuvieron bajo condiciones que objetivaban minimizar las variables que podrían interferir en las respuestas biológicas de interés del experimento. El criadero se mantuvo a temperaturas promedios de 21°C para evitar cambios en la temperatura ambiental que pudiesen conllevar a respuestas de adaptación, con alteraciones comportamentales, fisiológicas y metabólicas; y que podrían interferir en los resultados de la investigación. La humedad del aire se mantuvo cerca del 55%, ya que los roedores eliminan una buena parte del calor corporal por los pulmones, además de un ambiente más seco que facilita la evaporación pulmonar del agua.

El ambiente se mantuvo ventilado para eliminar el amonio producido a partir del nitrógeno de la orina y las heces, otra fuente de estrés. Antes del experimento, se crearon períodos alternados y regulares de luz y oscuridad para la sincronización del ciclo circadiano. Eso se hizo porque la intensidad luminosa y el foto período (duración del día), influyen en el metabolismo y en el ciclo estral de los animales, alterando sus respuestas biológicas. El aislamiento total del criadero con relación a la luz natural, permitió el control de la intensidad luminosa y, por ende, del foto período. Fueron utilizadas luces fluorescentes blancas que emiten menos calor. Como los roedores tienen una audición muy aguzada, el ambiente se mantuvo con bajas tasas de ruido para reducir el estrés²⁰.

El bloqueo del nervio ciático fue realizado con el halotano en los ratones que estaban bajo anestesia general porque las punciones bajo esa anestesia son más precisas y las tasas de éxito son mayores²¹. Consideramos que la aguja estaba suficientemente cercana del nervio ciático cuando había respuesta motora a las corrientes de 0,2 mA en el estimulador del nervio periférico²².

El reflejo de retirada en respuesta al contacto con una chapa caliente fue el test nociceptivo utilizado en el experimento. Ese reflejo envuelve la contracción de los músculos flexores de la cadera, rodilla y tobillo. Es un reflejo polisináptico inducido por la estimulación nociva del miembro y su latencia, y la amplitud, y duración están en dependencia de la intensidad del estímulo. Los estímulos sensoriales muy intensos y frecuentes, podrían producir hiperalgesia, hecho ese que podría inducir al error de interpretación por reducir el umbral de sensibilidad del nervio.

Por eso se limitó la temperatura de la placa y la frecuencia del estímulo. El nervio ciático se escogió por su diámetro y facilidad de acceso, facilitando la punción y haciéndola más exacta^{22,23}. Por tanto, el nervio ciático es el punto de partida para el estudio de anestésicos locales en un animal intacto, y junto con las investigaciones *in vitro* compone los requisitos de la fase preclínica de nuevos compuestos, antes de las fases de investigación en el hombre. La evaluación de la eficacia anestésica sensorial fue fundamentada en la observación del comportamiento de los animales de experimentación al estímulo térmico nociceptivo, caracterizado por el intercambio rápido del apoyo de los pies ("zapateado"), y por los gestos de lamer, morder o levantar una de las patas cuando se les

pone sobre una superficie caliente que está por encima de los 50°C. Ese modelo ya fue comprobado con buenos resultados en otras investigaciones¹². Es importante enfatizar que, aunque la inervación sensitiva de la pata sea mediada por el nervio ciático, las flexiones de la cadera y de la rodilla, necesarias para remover la pata de la placa caliente, son mediadas por el nervio femoral, que no sufrió bloqueo nervioso.

Por tanto, ese test fue específico para evaluar el bloqueo sensitivo. Bajo esas condiciones, la pata fue estimulada de una forma más restringida. Esa evaluación es diferente de otros métodos de ensayo como la inmersión en agua caliente, cuando un área mayor es estimulada, habiendo otras contribuciones sensitivas además de la posibilidad de inducir a errores.

La temperatura de 56°C se escogió porque representa un estímulo intenso y permite distinguir más claramente el bloqueo sensorial de los efectos analgésicos más suaves. El nervio ciático de los ratones fue localizado con la ayuda de un estimulador de nervio periférico. Ése es un método tradicional y confiable para localizar nervios periféricos de tal forma que se puede asegurar que el anestésico local, acondicionado en microesferas o en la forma libre, fue depositado junto al nervio ciático de los ratones estudiados, eliminando el fallo técnico.

En el presente estudio, no se observaron diferencias en la duración del bloqueo sensitivo o en la neurotoxicidad del anestésico local en la forma de microesferas o en la forma libre. La latencia para la retirada de la pata de la placa en los ratones, fue similar en los grupos que recibieron la bupivacaína libre o en microesferas. Al 3º día, la sensibilidad al estímulo térmico de los ratones que habían recibido la bupivacaína no era diferente del grupo control, y se estimó en 48 horas la duración de la analgesia para los grupos que recibieron infiltración con el anestésico local.

La duración de bloqueo sensitivo de esa magnitud o mayor, ha sido descrita para la bupivacaína en microesferas, pero no para la bupivacaína, y la mezcla enantiomérica libre. Como regla general, la duración de la bupivacaína libre cuando se utiliza en la infiltración del nervio periférico no rebasa las 24 horas. No existe una explicación para la mayor duración del bloqueo sensitivo observado con la mezcla enantiomérica libre. Tanto en los estudios experimentales como en los clínicos, ha quedado demostrado sistemáticamente, que el encapsulamiento de la bupivacaína en microesferas, prolonga la duración del efecto sensitivo de los anestésicos locales. Por ejemplo, la aplicación de la bupivacaína en microesferas en el nervio ciático de ratones²⁴ causó un bloqueo sensitivo que varió entre diez horas y 5,5 días. La adición de la dexametasona al anestésico local en las microesferas prolongó en hasta 13 veces la duración del bloqueo sensitivo cuando se comparó con la bupivacaína libre. En los seres humanos voluntarios, la duración del bloqueo intercostal posterior a la inyección de bupivacaína en las esferas *versus* bupivacaína libre, asociada o no a la dexametasona, fue significativamente mayor en el grupo que recibió la dexametasona asociada al anestésico local en microesferas²⁵.

Un efecto potenciador de la dexametasona asociada a la bupivacaína en microesferas en la infiltración subcutánea fue observado en los voluntarios humanos ²⁶. En el presente estudio, hubo una diferencia significativa en las estadísticas de duración del bloqueo motor. Los animales que recibieron la mezcla enantiomérica de la bupivacaína en microesferas (Grupo C), tuvieron menos tiempo de bloqueo motor que los demás. Esa diferencia en la duración del bloqueo motor de las formas levóginas de la bupivacaína también observada en otros estudios experimentales y clínicos ^{27,28}, podría ser imputada a una mayor fracción del componente levógiro presente en la bupivacaína en exceso enantiomérico. De hecho, un 75% de la mezcla enantiomérica de la bupivacaína y un 50% en la bupivacaína son levógiros. Pero cuando la duración del bloqueo motor de las bupivacaínas racémica en microesferas o libre se compara, vemos una mayor duración del bloqueo motor en la bupivacaína en microesferas conforme a lo demostrado en un estudio con conejos sometidos a anestesia epidural ²⁹.

Algunos animales fueron sacrificados para el análisis de las concentraciones sanguíneas del anestésico local. El promedio de las concentraciones plasmáticas del anestésico local fue mayor en el grupo que recibió la mezcla enantiomérica, sin embargo, esa diferencia no alcanzó ninguna significancia estadística. Un estudio realizado en ovejas, tampoco registró una concentración plasmática clínicamente relevante de la bupivacaína después de la inyección en el plexo braquial. El análisis histopatológico indica que no hay diferencias significativas entre los diversos grupos. En ningún caso hubo alteraciones clínicas en los animales, aunque un animal del grupo de mezcla enantiomérica haya presentado una crisis de convulsión.

Ese animal tenía una concentración plasmática de bupivacaína cuatro veces por debajo del umbral de toxicidad del sistema nervioso central en seres humanos o ratones ²⁴, lo que nos sugiere otra causa para la convulsión, tal vez el estrés durante el experimento ³⁰.

Pese a las claras diferencias entre los ratones y los humanos en términos de métodos, las dosis y los volúmenes de solución anestésica, y los resultados de las condiciones de este estudio, arrojaron los siguientes resultados: que la bupivacaína bajo la forma levógiro o racémica, encapsuladas o no en microesferas, no fueron diferentes entre sí en cuanto a la duración del bloqueo sensitivo y a los parámetros farmacocinéticos. El estudio sugiere también que la bupivacaína enantiomérica causa un bloqueo motor más corto.

REFERENCIAS

1. Borgeat A, Ekatodramis G, Schenker CA – Postoperative nausea and vomiting in regional anesthesia. A review. *Anesthesiology*, 2003;98:530-547.
2. Scurlock JE, Curtis BM – Tetraethylammonium derivatives: ultralong-acting local anesthetics. *Anesthesiology*, 1981;54:265-269.
3. Lipfert P, Seitz RJ, Amdt JO – Ultralong-lasting nerve block: triethyldecyl ammonium bromide is probably a neurotoxin rather than a local anesthetic. *Anesthesiology*, 1987;67:896-904.

4. Mulroy MF, Larkin KL, Batra MS et al. – Femoral nerve block with 0.25% or 0.5% bupivacaine improves postoperative analgesia following outpatient arthroscopic anterior cruciate ligament repair. *Reg Anesth Pain Med*, 2001;26:24-29.
5. Ilfeld BM, Esener DE, Morey TE, et al. – Ambulatory perineural infusion: The patients' perspective. *Reg Anesth Pain Med*, 2003;28:418-423.
6. Neal JM, Hebl JR, Gerancher JC et al. – Brachial plexus anesthesia: essentials of our current understanding. *Reg Anesth Pain Med*, 2002;27:402-428.
7. Legros F, Luo H, Bourgeois I et al. – Influence of different liposomal formulation on the pharmacokinetics of encapsulated bupivacaine. *Anesthesiology*, 1990;73(Suppl 3A):A851.
8. Blanco MD, Bernardo MV, Gomes C et al. – Bupivacaine-loaded comatrix formed by albumin microspheres included in a poly(lactide-co-glycolide) film: in vivo biocompatibility and drug release studies. *Biomaterials*, 1999;20:1919-1924.
9. Araújo DR, Pinto LM, Braga AFA et al. – Formulações de anestésicos locais de liberação prolongada: aplicações terapêuticas. *Rev Bras Anestesiologia*, 2003;53:663-671.
10. Araújo DR, Fraceto LF, Braga AFA et al. – Sistemas de liberação controlada com bupivacaína racémica (S50-R50) e mistura enantiomérica de bupivacaína (S75 R25): Efeitos da complexação com ciclodextrinas no bloqueio do nervo ciático em camundongos. *Rev Bras Anestesiologia*, 2005;55:316-328.
11. Estebe JP, Corre PL, Malldant Y et al. – Prolongation of spinal anesthesia with bupivacaine-loaded (DL- Lactide) microspheres. *Anesth Analg*, 1995;81:99-103.
12. Masters DB, Berde CB, Dutta SK et al. – Prolonged regional nerve blockade by controlled release of local anesthetic from a biodegradable polymer matrix. *Anesthesiology*, 1993;79:340-346.
13. Tanaka PP, Estêbe JP, Campos R et al. – Preparação, caracterização e avaliação in vitro de microesferas de bupivacaína em excesso enantiomérico de 50% (S75-R25). *Rev Bras Anestesiologia*, 2008;58(1):15-22.
14. Thalhammer JC, Vladimirova M, Bershadsky B et al. – Neurological evaluation of the rat during sciatic nerve block with lidocaine. *Anesthesiology*, 1995;82:1013-25.
15. Le Corre P, Estêbe JP, Clément R et al. – Spray-dried bupivacaine-loaded microspheres: in vitro evaluation and biopharmaceutics of bupivacaine following brachial plexus administration in sheep. *Int J Pharm*, 2002;238:191-203.
16. Ito Y, Hasuda H, Morimatsu M et al. – A microfabrication method of a biodegradable polymer chip for a controlled release system. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2005;16:949-955.
17. Wakiyama N, Juni K, Nakano M – Preparation and evaluation in vitro of polylactic acid microspheres containing local anesthetics. *Chem. Pharm. Bull (Tokyo)*, 1981;29:3363-3368.
18. Le Corre P, Estêbe JP, Chevanne F et al. – Spinal controlled delivery of bupivacaine from DL-lactic acid oligomer microspheres. *J Pharm Sci*, 1995;84:75-78.
19. Rose JS, Neal MN, Kopacz DJ – Extended-Duration Analgesia: Update on Microspheres and Liposomes. *Reg Anesth Pain Med*, 2005;30:275-285.
20. Stephan FK, Zucker I – Rat drinking rhythms: central visual pathways and endocrine factors mediating responsiveness to environmental illumination. *Physiol Behav*, 1972;8(2):315-326.
21. Hu D, Hu R, Berde CB – Neurologic evaluation of infant and adult rats before and after sciatic nerve blockade. *Anesthesiology*, 1997;86:957-965.
22. Grant GJ, Vermeulen K, Zakowski MI et al. – A sciatic nerve model for independent assessment of sensory and motor block induced by local anesthetics. *Anesth Analg*, 1992;75:889-894.
23. Feldman HS, Covino BG – Comparative motorblocking effects of bupivacaine and ropivacaine, a new amino amide local anesthetic, in the rat and dog. *Anesth Analg*, 1988;67:1047-1052.
24. Curley J, Castillo J, Hotz J et al. – Prolonged regional nerve block. Injectable biodegradable bupivacaine – polyester microspheres. *Anesthesiology*, 1996;84:1401-1410.

EVALUACIÓN DEL USO DE MICROESFERAS DE BUPIVACAÍNA EN EXCESO ENANTIOMÉRICO DEL 50% DESPUÉS
DEL BLOQUEO DEL NERVI0 CIÁTICO DE RATONES

25. Kopacz DJ, Lacouture PG, Wuk D et al. – The dose response and effects of dexamethasone on bupivacaine microcapsules for intercostal blockade (T9-T11) in healthy volunteers *Anesth Analg*, 2003;96:576-582.
26. Pedersen JL, Lillesø J, Hammer NA et al. – Bupivacaine in microcapsules prolongs analgesia after subcutaneous infiltration in humans: a dose finding study, *Anesth Analg*, 2004;99:912-918.
27. Foster RH, Markham A Levobupivacaine: a review of its pharmacology and use as a local anaesthetic. *Drugs*, New York, 2000;59:551-579.
28. Simonetti MPB, Valinetti EA, Ferreira FM – Avaliação da atividade anestésica local da S(-) bupivacaína: estudo experimental in vivo em nervo ciático de rato. *Rev Bras Anesthesiol*, 1997;47:425-434.
29. Malinovsky JM, Bernard JM, Corre PL et al. – Motor and blood pressure effects of epidural sustained release bupivacaine from polymer microspheres: a dose respond study in rabbits. *Anesth Analg*, 1995;81:519-524.
30. Estebe JP, Myers RR – Amitripyline neurotoxicity. Dose-related pathology after topical topical application to rat sciatic nerve. *Anesthesiology*, 2004;100:1519-25.