



REVISTA BRASILEIRA DE ANESTESIOLOGIA

Publicação Oficial da Sociedade Brasileira de Anestesiologia
www.sba.com.br



ARTIGO CIENTÍFICO

Efeito de doses equipotentes de bupivacaína e ropivacaína em modelo de roedor neonatal alimentado com dieta rica em gordura



Ying-Dong Lian^a, Zong-Xiang Chen^a, Kang-Ru Zhu^b, Shu-Yin Sun^a e Li-Ping Zhu^{b,*}

^a Jining No. 1 People's Hospital, Department of Emergency, Jining, China

^b Jining No. 1 People's Hospital, Department of Pediatrics, Jining, China

Recebido em 2 de abril de 2015; aceito em 17 de agosto de 2015

Disponível na Internet em 28 de setembro de 2016

PALAVRAS-CHAVE

Bupivacaína;
Ropivacaína;
Anestesia intratecal;
Toxicidade medular;
Obesidade

Resumo

Objetivos: O aumento da prevalência da obesidade é um problema sério de saúde e econômico. A obesidade tem sido relatada como um dos principais contribuintes para uma variedade de doenças crônicas. A obesidade infantil tem aumentado nas últimas décadas e levado a complicações de saúde. Milhões de bebês e crianças são submetidos a cirurgia todos os anos por diversos motivos de saúde. O presente estudo foi feito para avaliar o efeito da raquianestesia com doses equipotentes de ropivacaína e bupivacaína em ratos recém-nascidos com sobrepeso. **Métodos:** As crias de ratos Sprague-Dawley foram alimentadas em excesso com dieta rica em gordura para induzir obesidade. Avaliações comportamentais para bloqueio sensorial e motor foram feitas por meio da avaliação das latências de retirada térmicas e mecânicas em vários intervalos de tempo após injeções por via intratecal de bupivacaína (5,0 mg·kg⁻¹) e ropivacaína (7,5 mg·kg⁻¹) em ratos P14. Tecido medular foi analisado para apoptose por determinação da caspase-3 ativada, com o uso de anticorpo monoclonal anti-caspase 3 ativada e coloração com Fluoro-Jade c. A função da coluna vertebral em longo prazo em filhotes de ratos P30 foi avaliada.

Resultados: A exposição à anestesia intratecal em P14 aumentou as latências térmicas e mecânicas e observamos aumento da apoptose, como apresentado pelo aumento da caspase-3 ativada e células positivas para Fluoro-Jade C. Alterações significativas da função da coluna vertebral foram observadas em filhotes alimentados com dieta rica em gordura *versus* filhotes controles não obesos em dieta padrão. Bupivacaína produziu efeitos apoptóticos mais pronunciados sobre os filhotes P14; ropivacaína, entretanto, produziu efeitos duradouros, como evidenciado nos testes de função motora em P30.

* Autor para correspondência.

E-mail: zhuliping278@gmail.com (L. Zhu).

KEYWORDS

Bupivacaine;
Ropivacaine;
Intrathecal
anesthesia;
Spinal toxicity;
Obesity

Conclusão: Ropivacaína e bupivacaína induziram toxicidade medular mais pronunciada nos filhotes de ratos sobrealimentados do que nos controles normais.

© 2016 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/>).

Effect of equipotent doses of bupivacaine and ropivacaine in high-fat diet fed neonatal rodent model**Abstract**

Objectives: The increase in the prevalence of obesity presents a significant health and economic problem. Obesity has been reported to be a major contributor to variety of chronic diseases. Childhood obesity has been rising over the past decades leading to various complications in health. Millions of infants and children undergo surgery every year on various health grounds. The present investigation was undertaken to evaluate the effect of spinal anesthesia of equipotent doses of ropivacaine and bupivacaine on over-weight neonatal rats.

Methods: The Sprague-Dawley rat pups were overfed on high fat diet to induce obesity. Behavioral assessments for sensory and motor blockade was made by evaluating thermal and mechanical withdrawal latencies at various time intervals following intrathecal injections of bupivacaine (5.0 mg·kg⁻¹) and ropivacaine (7.5 mg·kg⁻¹) in P14 rats. Spinal tissue was analyzed for apoptosis by determination of activated caspase-3 using monoclonal anti-activated caspase-3 and Fluoro-Jade C staining. Long-term spinal function in P30 rat pups was evaluated.

Results: Exposure to intrathecal anesthesia in P14 increased thermal and mechanical latencies and was observed to increase apoptosis as presented by increase in activated caspase-3 and Fluoro-Jade C positive cells. Significant alterations in spinal function were observed in high fat diet-fed pups as against non-obese control pups that were on standard diet. Bupivacaine produced more pronounced apoptotic effects on P14 pups; ropivacaine however produced long lasting effects as evidenced in motor function tests at P30.

Conclusion: Ropivacaine and bupivacaine induced spinal toxicity that was more pronounced in over-fed rat pups as against normal controls.

© 2016 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

A obesidade infantil é um dos desafios de saúde pública mais sérios do século XXI. A prevalência de obesidade infantil tem aumentado a um ritmo alarmante. A obesidade afeta cerca de 1,5 bilhão de pessoas ao redor do mundo atualmente,^{1,2} das quais 200 milhões são crianças.³ As crianças obesas e acima do peso têm mais chances de desenvolver complicações relacionadas à obesidade.^{4,5}

Relatou-se também que a obesidade está associada a várias condições cirúrgicas.⁶ As alterações fisiológicas na obesidade afetam de modo significativo a distribuição, ligação e eliminação de anestésicos⁷⁻⁹ e reações adversas graves podem resultar se a dosagem do medicamento tiver como base apenas o peso corporal atual do paciente.

A anestesia regional, como anestesia combinada raqui-peridural ou integrada peridural e anestesia geral leve, é frequentemente usada em pacientes obesos para reduzir os riscos relacionados ao controle das vias aéreas e às depressões respiratórias no pós-operatório que são induzidas por anestésicos gerais ou opiáceos administrados para o tratamento da dor.¹⁰

Bupivacaína é usada como anestésico local e administrada em bloqueio de nervos, anestesia peridural e intratecal e, com frequência, é administrada para controlar a dor antes, durante e depois de cirurgia da coluna vertebral.¹¹ Embora amplamente usada no controle da dor, relatou-se que bupivacaína é cardiotóxica, neurotóxica e o anestésico local mais miotóxico.¹² Ropivacaína, um anestésico local do grupo das aminoamidas, é estruturalmente relacionada à mepivacaína e bupivacaína e tem propriedades terapêuticas semelhantes às de bupivacaína, mas está associada a menos bloqueio motor e toxicidade.¹³ Em estudos clínicos, ropivacaína parece ser adequada tanto para anestesia regional quanto peridural.¹⁴ O presente estudo foi feito para avaliar os efeitos de bupivacaína e ropivacaína em ratos recém-nascidos com sobrepeso/obesos.

Material e métodos**Animais**

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Médica do Hospital do Povo nº 1 de Jining, Comitê Institucional de

Cuidados com Animais, e foi conduzido de acordo com as Diretrizes do Instituto Nacional de Saúde para o Uso de Animais de Laboratório. Usamos fêmeas grávidas de ratos da raça Sprague-Dawley (Guangdong Medical Laboratory Animal Co., China), que foram alojadas em um ambiente com ciclos de 12 horas de claro/escuro, com livre acesso à água. Os animais foram alojados individualmente em gaiolas separadas e monitorados atentamente para o dia de nascimento, que foi considerado como o dia 0 pós-natal (P0). Os filhotes (machos e fêmeas) foram mantidos em gaiolas em ambiente com ciclos de 12 horas de claro/escuro e livre acesso à água, com seus companheiros de ninhada até o quinto dia (P5). A hiperalimentação neonatal foi feita para induzir obesidade por meio da redução do tamanho da ninhada para três filhotes por ninhada (ninhada reduzida – NR) em P6, enquanto as ninhadas padrão (NP) foram padronizadas para 10 filhotes por ninhada. Os filhotes NR tiveram acesso a dieta rica em gordura de P6 a P21. A dieta rica em gordura foi preparada com manteiga, leite em pó, farinha de trigo e açúcar em proporções iguais. Os ratos foram alimentados com uma dieta rica em gordura ($4\text{ g}\cdot\text{dia}^{-1}$), juntamente com ração padrão. Os animais tanto de NR ($n=36$) quanto de NP ($n=36$) foram cuidadosamente monitorados. Em P14, os ratos foram agrupados separadamente para as experiências. Os filhotes da NP para controle (NPC) não receberam anestesia e foram alimentados com dieta normal; os filhotes da NR para controle (NRC) não receberam anestesia, mas foram alimentados com dieta rica em gordura. Em P14, os filhotes dos grupos de tratamento NP e NR receberam administração intratecal de bupivacaína (NPB e NRB) e de ropivacaína (NPR e NRR). Em P14, os pesos corporais dos filhotes NP e NR eram de aproximadamente 23-28 g e 26-34 g, respectivamente.

Injeções intratecais de bupivacaína e ropivacaína

Com os animais em decúbito ventral, as soluções anestésicas foram injetadas por via intratecal no nível L4-L5 ou L5-L6, com uma seringa de $100\ \mu\text{L}$ (agulha espinhal de calibre 26G, modelo 801 RN; Hamilton Company, Bonaduz, Suíça). A colocação intratecal da ponta da agulha foi confirmada pelo movimento de retração da cauda. Uma concentração constante de bupivacaína foi injetada em volumes variados, escalonados para o peso corporal do filhote a uma dose de $5,0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de peso corporal. Ropivacaína ($7,5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de peso corporal) foi administrada.

Avaliações comportamentais dos bloqueios sensorial e motor

Os ratos P14 foram submetidos à mensuração de referência da pata traseira para as latências de retirada térmica imediatamente antes da injeção espinhal. O bloqueio da nocicepção térmica foi avaliado com um teste de placa quente modificado como descrito previamente.^{15,16} As patas traseiras dos ratos P14 foram expostas em sequência (primeiro a esquerda, depois a direita) a uma placa quente (modelo 39D de placa quente medidora de analgesia; IITC Inc., Woodland Hills, CA, EUA) a $52\ ^\circ\text{C}$. O tempo (latência de retirada térmica) até que os ratos levantassem as patas foi medido com um cronômetro. Após 12 segundos, a pata testada foi removida pelo experimentador para evitar lesão ao

animal ou o desenvolvimento de hiperalgesia. Esse teste foi repetido três vezes (com uma pausa de 10 segundos entre os testes) para cada rato em cada tempo mensurado. As latências de retiradas térmicas foram medidas a cada 10 minutos por no mínimo 40 minutos após a injeção intratecal.

O bloqueio da nocicepção mecânica foi avaliado pela retirada da pata posterior com o uso de filamentos de von Frey. Os filamentos de von Frey aplicam pressão logaritmicamente crescente. Os filhotes foram levemente contidos em uma superfície plana e o dispositivo eletrônico bem calibrado de filamentos de von Frey (Stoelting Co., Wood Dale, IL, EUA), que dispensa estímulos mecânicos crescentes, foi aplicado à superfície dorsal da pata traseira dos filhotes, cinco vezes com intervalos de um segundo.¹⁷ O número de respostas evocadas de retirada da pata para cada estímulo de intensidade crescente foi registrado até que um determinado estímulo evocasse cinco respostas ou até que uma pressão de corte supralimiar fosse atingida.¹⁷ Os limiares de retirada mecânica foram registrados na fase basal e cada 10 minutos por no mínimo 40 minutos após a injeção intratecal e até a observação de recuperação total. Em ambos os testes de retirada mecânica e térmica os animais foram observados para a possibilidade de exibir bloqueio motor sem bloqueio sensorial, com base na ausência de movimento do membro posterior e vocalização ou sinais de respostas de fuga na parte superior do corpo. Isso não foi observado em qualquer animal.

O desempenho motor das extremidades foi avaliado por meio de escore qualitativo. Para cada perna, se não houvesse movimento espontâneo ou evocado, a contribuição para o escore seria zero. Se houvesse um movimento parcial, a contribuição seria 1 e se houvesse um movimento normal, a contribuição para o escore seria 2. Dessa forma, ao somar os valores para ambas as pernas, o escore poderia variar de 0 (bloqueio completo) a 4 (normal).

Comportamento motor no 30º dia pós-natal

O comprometimento motor foi avaliado em ratos P30 que haviam sido submetidos a injeções espinhais de bupivacaína ou ropivacaína em P14. Esses ratos foram submetidos ao teste *rotarod* (Dual Species Economex Rotarod – Columbus Instruments, Columbus, OH, EUA), com um eixo rotativo a 10 rotações por minuto.¹⁸ Cada rato foi testado três vezes com intervalos de 10 minutos entre cada avaliação. A latência máxima para cada ensaio foi de 300 segundos antes da remoção do eixo. A média das três avaliações foi usada para a análise dos dados.

Eutanásia e perfusão

Os animais foram sacrificados com injeção intraperitoneal de pentobarbital sódico ($100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) e perfundidos transcardialmente com solução salina seguida de paraformaldeído a 4% seis horas após o término dos períodos de tratamento. Os grupos submetidos à raqui-anestesia com bupivacaína ou ropivacaína foram perfundidos seis horas após o início da intervenção anestésica. Após a dissecação cuidadosa da medula espinhal, os tecidos foram armazenados durante a noite a $4\ ^\circ\text{C}$ em paraformaldeído a 4% e, em seguida, transferidos para uma solução de sacarose a 30% a

4 °C até o seccionamento. As secções transversais da espinal medula lombossacral (7 e 14 μm) foram fatiadas com o uso de criostato, fixadas em lâminas e armazenadas a 30 °C.

Análise de caspase-3 ativada

Para avaliar a apoptose, o tecido espinal obtido dos animais P14 seis horas após a injeção intratecal da anestesia foi corado para a caspase-3 ativada. As lâminas foram incubadas durante 10 minutos em peroxidase a 3%, bloqueadas com Triton \times -100 a 0,3% e soro normal de cabra a 5% em solução salina tamponada com Tris por uma hora em temperatura ambiente, seguido de incubação com anticorpo monoclonal de coelho anticaspase-3 ativada (1:100; Cell Signaling, Danvers, MA, EUA) durante a noite a 4 °C. Anticorpo secundário biotilado de cabra anticoelho (Vector Laboratories, Burlingame, CA, EUA) foi aplicado a 1:250 por 30 minutos em temperatura ambiente. As lâminas foram adicionalmente incubadas com complexo de avidina-biotina-peroxidase (Vector Laboratories, Burlingame, CA) por 30 minutos e desenvolvidas com 3,3'-diaminobenzidina (DAB) por oito minutos. As lâminas foram contrastadas com hematoxilina, desidratadas e avaliadas.

Coloração com Fluoro-Jade C

Coloração com Fluoro-Jade C foi feita em seções de 14 μm da medula espinhal, que foram obtidas seis horas após a injeção intratecal. A coloração foi feita com o uso do kit de coloração com Fluoro-Jade C (Biosensis, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. As células com imunofluorescência positiva para Fluoro-Jade C foram contadas sob microscopia de fluorescência com comprimento de onda apropriado.

Análise estatística

Os dados foram expressos em média \pm DP a partir de no mínimo seis experiências independentes. Anova (análise de variância simples) com $p < 0,05$ foi considerada estatisticamente significativa. As análises estatísticas foram feitas com o software SPSS (versão 17.0).

Resultados

Respostas dos animais a estímulos térmicos

As latências de retirada térmica da pata traseira foram determinadas para os ratos P14 (fig. 1B) dos grupos que receberam bupivacaína e ropivacaína. As doses tanto de bupivacaína (0,5 mg.kg⁻¹) quanto de ropivacaína (0,75 mg.kg⁻¹) produziram denso bloqueio nociceptivo térmico na primeira avaliação 10 minutos após a injeção, em comparação com os controles, e permaneceram densas aos 20 minutos. Aos 30 minutos, as latências de retirada térmica permaneceram significativamente maiores do que os valores de controle no grupo ropivacaína em comparação com bupivacaína. No entanto, as latências de retirada térmica do grupo bupivacaína permaneceram mais elevadas do que as do grupo controle aos 30 e 40 minutos (fig. 1A).

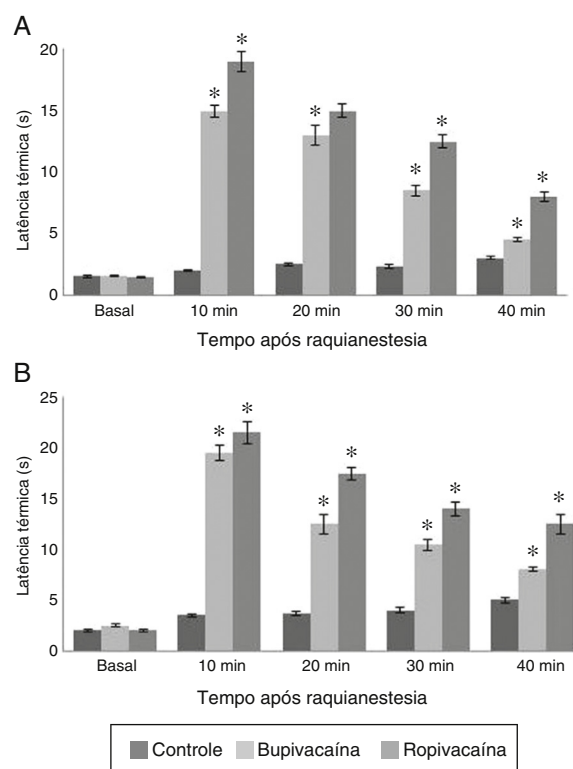


Figura 1 (A) Latência térmica em filhotes de ratos P14 de ninhada padrão após raqui-anestesia. (B) Latência térmica em filhotes de ratos P14 de ninhada reduzida após raqui-anestesia. Os valores foram expressos em média \pm DP ($n = 6$). *Representa significância estatística em $p < 0,05$, em comparação com controles, determinado por Anova.

Observamos que as latências foram acentuadamente maiores nos filhotes com sobrepeso que receberam bupivacaína ou ropivacaína do que nos filhotes que não foram hiperalimentados. Os filhotes controles com sobrepeso apresentaram latências mais elevadas do que os filhotes controles normais (fig. 1B).

Resposta a estímulos mecânicos

As figuras 2 A e 2 B mostram as respostas de retirada aos filamentos de von Frey aplicados às patas posteriores dos ratos P14 que receberam bupivacaína e ropivacaína. Os valores dos limiares permaneceram mais elevados após as injeções intratecais, comparados com os de controle. O limiar atingiu o máximo entre 5-20 minutos após as injeções em filhotes que receberam ropivacaína e bupivacaína. Nos filhotes hiperalimentados o limiar permaneceu superior ao dos controles aos 30-40 minutos, em comparação com os filhotes de ratos NPB e NPR.

Escores de bloqueio motor

Os escores de bloqueio motor são apresentados na tabela 1. Os animais que não receberam ropivacaína e bupivacaína não apresentaram sinais de comprometimento motor. Bupivacaína e ropivacaína produziram bloqueio motor denso em todos os animais NP que se recuperaram

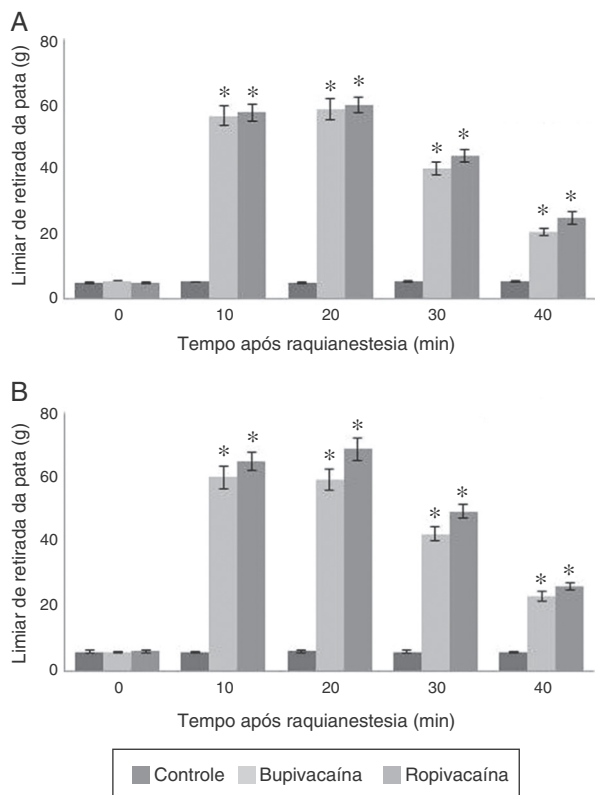


Figura 2 (A) Limiar de resposta de retirada da pata em filhotes de ratos P14 de ninhada padrão após raquianestesia, determinado com o uso de filamentos de von Frey. (B) Pata retirada. Limiar de resposta de retirada da pata em filhotes de ratos P14 de ninhada reduzida após raquianestesia, determinado com o uso de filamentos de von Frey. Os valores foram expressos em média \pm DP ($n = 6$). *Representa significância estatística em $p < 0,05$, em comparação com controles, determinado por Anova.

Tabela 1 Resposta motora dos membros posteriores de ratos P14 após raquianestesia

RGrupos	Tempo (min)						
	0	5	10	20	30	40	50
NPC	4	4	4	4	4	4	4
NPB	0	0	0	2	2	4	4
NPR	0	0	0	1	2	4	4
NRC	4	4	4	4	4	4	4
NRB	0	0	0	0	2	2	4
NRR	0	0	0	0	1	1	2

Valores expressos em média, $n = 6$.

Os escores foram de 0-4 pontos, com base na soma das contagens para os lados direito e esquerdo.

O escore para cada perna, 0 = sem movimento, 1 = comprometimento parcial e 2 = movimento total.

NPB, filhotes de ninhada padrão que receberam bupivacaína; NPC, filhotes de ninhada padrão para controle; NPR, filhotes de ninhada padrão que receberam ropivacaína; NRB, filhotes de ninhada reduzida que receberam bupivacaína; NRC, filhotes de ninhada reduzida para controle; NRR, filhotes de ninhada reduzida que receberam ropivacaína.

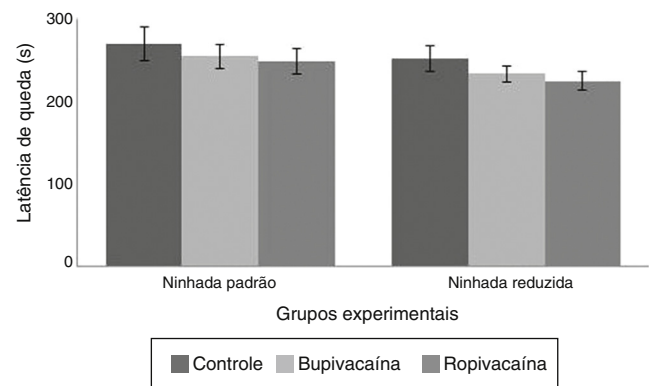


Figura 3 Latência de queda dos filhotes de ratos P30 após raquianestesia em P14. Os foram expressos em média \pm DP ($n = 6$).

quase completamente aos 40 minutos. Enquanto os animais NR que receberam injeções intratecais apresentaram bloqueios em NRR e NRB mesmo aos 40 minutos. Os filhotes NRR e NPR apresentaram bloqueio motor superior ao dos filhotes NRB e NPB, respectivamente, aos 40 minutos (tabela 1). Os animais controles que não receberam anestesia responderam ao pinçamento da pele das costas com espasmos de susto e exibiram comportamento de fuga. Todos os animais que receberam injeções espinhais de bupivacaína e ropivacaína não exibiram resposta comportamental ao pinçamento da pele das costas nos níveis lombar e torácico inferior, mas exibiram leve comportamento de retirada ao pinçamento nos níveis torácico superior e nas patas dianteiras 10-15 minutos após as injeções. Os animais dos grupos NP e NR que receberam bupivacaína ou ropivacaína apresentaram respostas semelhantes ao pinçamento.

Desempenho motor em ratos adultos com exposição anestésica pós-natal

Os ratos P30 que foram expostos a injeções intratecais de ropivacaína e bupivacaína em P14 foram testados para o desempenho motor com o uso do teste *rotarod*. As diferenças observadas entre os grupos não foram significativas, embora o grupo controle que não recebeu ropivacaína ou bupivacaína tenha apresentado valores mais elevados que os outros grupos (fig. 3).

Caspase-3 clivada e coloração com Fluoro-Jade C para neurodegeneração apoptótica

O número de células positivas para caspase-3 ativada e coradas com Fluoro-Jade C na medula espinal lombar dos filhotes P14 que receberam injeções intratecais foi acentuadamente superior ($p < 0,05$) comparado com o dos filhotes controles normais. As contagens de apoptose foram maiores nos ratos que receberam bupivacaína do que naqueles que receberam ropivacaína. Embora superiores, as contagens não foram significativamente diferentes. Em NRB, as contagens de células em apoptose foram ligeiramente superiores do que em NPB. Resultados semelhantes aos da administração de bupivacaína foram observados entre NRR e NPR (figs. 4 e 5).

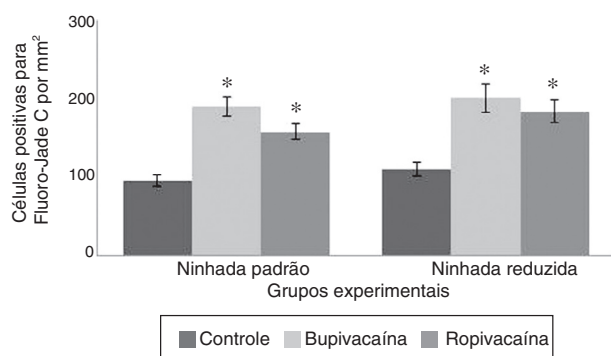


Figura 4 Células positivas para Fluoro-Jade C em secções da espinal medula de filhotes de ratos P14 após raquianestesia. Os foram expressos em média \pm DP ($n = 6$). *Representa significância estatística em $p < 0,05$, em comparação com seus respectivos controles, determinado por Anova.

Discussão

Os anestésicos induzem um estado de inconsciência para evitar a dor e a sensibilidade e milhões de crianças todos os anos são expostas à anestesia como parte de seus atendimentos médicos. No entanto, a segurança da anestesia na população pediátrica é um motivo de preocupação e estudos retrospectivos anteriores relataram uma correlação entre exposição à anestesia e dificuldades de aprendizagem.^{19,20} Além disso, vários modelos animais mostraram que a exposição precoce a anestésicos resulta em déficits comportamentais significativos em longo prazo.²¹⁻²³

Bupivacaína é um anestésico comumente usado para o controle da dor em cirurgias para dores lombares e da coluna vertebral. Bupivacaína liga-se a íons sódio intracelulares e bloqueia o influxo de sódio em células nervosas, o que impede a despolarização. Além disso, bupivacaína também é um potente desacoplador da fosforilação oxidativa mitocondrial e, portanto, pode induzir apoptose.²⁴ De fato, um estudo anterior demonstrou que uma fração da morte celular causada por bupivacaína é via apoptose, embora o mecanismo principal seja via necrose.²⁵ Ropivacaína é um anestésico local de ação prolongada com estrutura semelhante à de bupivacaína. Em geral, ropivacaína foi bem tolerada em pacientes pediátricos com entre um mês e 15 anos, independentemente da via de administração. A incidência global de eventos adversos associados à ropivacaína parece ser baixa. Náusea e/ou vômito ocorrem com mais frequência.²⁶

Uma das propriedades importantes de um anestésico local de ação prolongada é inibir os impulsos nervosos de modo reversível e causar, assim, o prolongamento do bloqueio sensorial ou motor apropriado para a anestesia em diferentes tipos de cirurgias.²⁷ Os resultados da avaliação dos bloqueios motor e sensorial em filhotes de ratos após anestesia intratecal com ropivacaína ou bupivacaína sugerem que ropivacaína induziu bloqueios sensitivo e motor por tempo maior do que bupivacaína. Descobrimos também que o peso do animal influenciou o grau de bloqueio motor e sensorial. Os filhotes hiperalimentados com obesidade leve exibiram latências térmicas e mecânicas maiores do que os filhotes alimentados normalmente submetidos à injeção

intratecal. No entanto, observamos que a influência do peso não interferiu no desempenho motor dos ratos em P30. Os resultados dos testes *rotarod* sugeriram que não houve variações significativas no desempenho dos ratos entre os vários grupos. Observamos também que as latências térmicas e mecânicas desapareceram aos 40-50 minutos após as injeções.

Estudos anteriores investigaram os efeitos da obesidade sobre a anestesia espinal, mas os resultados não foram consistentes.²⁸⁻³⁵ Os resultados observados diferem de acordo com a baricidade dos anestésicos locais e também de acordo com a escolha variável para a comparação entre pacientes obesos e não obesos. Estudos relataram correlação positiva entre obesidade e nível de bloqueio sensorial.^{28-31,35} Portanto, em nosso estudo as alterações nos bloqueios e os níveis de apoptose sugerem relação positiva entre obesidade e bloqueios sensoriais. Embora os animais do grupo NR não tenham sido designados como obesos, a diferença de peso entre os grupos NP influenciaram até certo ponto os resultados dos bloqueios após a anestesia. As doses equipotentes de ropivacaína e bupivacaína apresentaram variações na intensidade e duração dos bloqueios entre NR e NP. Entretanto, ropivacaína não causou grandes alterações entre os grupos. Os efeitos neurotóxicos de bupivacaína e ropivacaína foram relatados em ratos recém-nascidos; porém, em nosso estudo em P30 não observamos alterações significativas no desempenho dos filhotes tanto de NR quanto de NP. Isso sugere que os medicamentos não provocaram alterações em longo prazo.

O efeito neurotóxico dos anestésicos locais sobre a medula espinal foi extensivamente estudado em ratos adultos. Bupivacaína parece não ser tóxica para a medula espinal em ratos mais velhos, embora haja relato de que a anestesia geral induziu neurodegeneração apoptótica na medula espinal de rato recém-nascido.¹⁸

A caspase-3 clivada serve como um marcador de apoptose para detectar o desenvolvimento de neurotoxicidade induzida por anestésicos. Nossas observações em ratos recém-nascidos demonstraram que a administração intratecal de bupivacaína e ropivacaína teve um perfil similar de impacto morfológico e apoptótico. O número de células apoptóticas foi maior do que o dos controles. Bupivacaína, entretanto, induziu níveis muito mais elevados de células positivas para caspase-3 do que ropivacaína. A extensão da neurodegeneração medida com o uso do marcador Fluoro-Jade C também foi consistente com os resultados anteriores. O número de células positivas para Fluoro-Jade C nas secções da coluna vertebral dos ratos P14 após a anestesia espinal foi acentuadamente mais elevado do que nos filhotes controles. Os resultados sugerem que bupivacaína foi mais neurotóxica do que ropivacaína e que o peso corporal influenciou/influencia a extensão da neurotoxicidade e apoptose. Embora ropivacaína tenha mostrado produzir bloqueios mais prolongados, esse fármaco induziu alguma toxicidade neuronal.

As observações sobre a neurotoxicidade dos agentes anestésicos no desenvolvimento de animais de laboratório questionam sua segurança na prática clínica com o aumento da população pediátrica com excesso de peso. Novos estudos devem ser elaborados com investigações abrangentes sobre os mecanismos envolvidos e medidas para reduzir os efeitos colaterais indesejáveis.

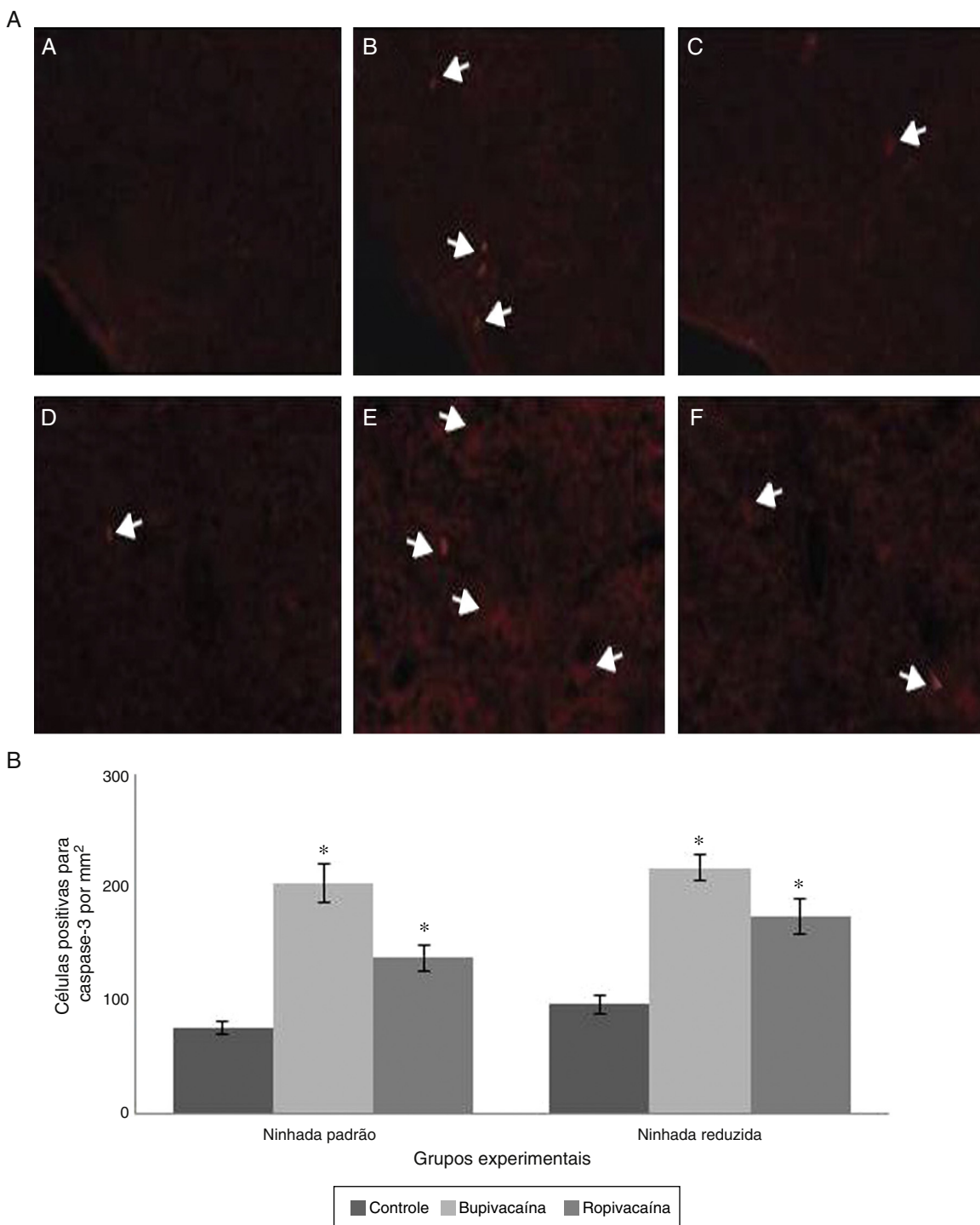


Figura 5 Células positivas para caspase-3 nas secções da medula espinal de filhotes de ratos P14 após raquianestesia. Secção da medula espinal revela células positivas para caspase-3. (A) Secção espinal de filhotes controles de ninhada padrão; (B) Secção espinal de filhotes de ninhada padrão que receberam bupivacaína; (C) Secção espinal de filhotes de ninhada padrão que receberam ropivacaína; (D) Secção da coluna vertebral de filhotes controles de ninhada reduzida; (E) Secção da coluna vertebral de filhotes de ninhada reduzida que receberam bupivacaína; (F) Secção da coluna vertebral de filhotes de ninhada reduzida que receberam ropivacaína. Número de células positivas para caspase-3 em secções da medula espinal. Os foram expressos em média \pm DP ($n = 6$). *Representa significância estatística em $p < 0,05$, em comparação com seus respectivos controles, determinado por Anova.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

1. Reilly JJ. Obesity in childhood and adolescence: evidence based clinical and public health perspectives. *Postgrad Med J*. 2006;82:429–37.
2. de Onis M, Blossner M, Borghi E. Global prevalence and trends of overweight and obesity among preschool children. *Am J Clin Nutr*. 2010;92:1257–64.
3. WHO Fact Sheet: childhood overweight and obesity. Acesso em 17/03/2013. Disponível em <http://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood/en/>
4. Guo SS, Wu W, Chumlea WC, et al. Predicting overweight and obesity in adulthood from body mass index values in childhood and adolescence. *Am J Clin Nutr*. 2002;76:653–8.
5. Nader PR, O'Brien M, Houts R, et al. Identifying risk for obesity in early childhood. *Pediatrics*. 2006;118:e594–601.
6. Bjorntorp P. Obesity. *Lancet*. 1997;350:423–6.
7. Abernethy DR, Greenblatt DJ. Drug disposition in obese humans. An update. *Clin Pharmacokinet*. 1986;11:199–213.
8. Adams JP, Murphy PG. Obesity in anaesthesia and intensive care. *Br J Anaesthesiol*. 2000;85:91–108.
9. Cheymol G. Effects of obesity on pharmacokinetics implications for drug therapy. *Clin Pharmacokinet*. 2000;39:215–31.
10. Kuczkowski KM, Benumof JL. Repeat cesarean section in a morbidly obese parturient: a new anesthetic option. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2002;46:753–4.
11. Sice PJ, Chan D, MacIntyre PA. Epidural analgesia after spinal surgery via intervertebral foramen. *Br J Anaesth*. 2005;94:378–80.
12. Morgan MM. *Clinical anaesthesiology*. 4th ed. New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill; 2006. p. 263–75.
13. Markham A, Faulds D. Ropivacaine: a review of its pharmacology and therapeutic use in regional anesthesia. *Drugs*. 1996;52:429–49.
14. Catterall WA, Mackie K. Local anesthetics. In: Brunton LL, Parker KL, Blumenthal DK, Buxton ILO, editors. *Goodman and Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics*. New York, NY: McGraw-Hill Medical Publishing; 2008. p. 241–52.
15. Hu D, Hu R, Berde CB. Neurologic evaluation of infant and adult rats before and after sciatic nerve blockade. *Anesthesiology*. 1997;86:957–65.
16. Kohane D, Sankar W, Shubina M, et al. Sciatic nerve blockade in infant, adolescent, and adult rats: a comparison of ropivacaine with bupivacaine. *Anesthesiology*. 1998;89:1199–208.
17. Walker SM, Howard RF, Keay KA, et al. Developmental age influences the effect of epidural dexmedetomidine on inflammatory hyperalgesia in rat pups. *Anesthesiology*. 2005;102:1226–34.
18. Sanders RD, Xu J, Shu Y, et al. General anesthetics induce apoptotic neurodegeneration in the neonatal rat spinal cord. *Anesth Analg*. 2008;106:1708–11.
19. Wilder RT, Flick RP, Sprung J, et al. Early exposure to anesthesia and learning disabilities in a population-based birth cohort. *Anesthesiology*. 2009;110:796–804.
20. Flick RP, Katusic SK, Colligan RC, et al. Cognitive and behavioral outcomes after early exposure to anesthesia and surgery. *Pediatrics*. 2011;128:e1053–61.
21. Jevtovic-Todorovic V, Hartman RE, Izumi Y, et al. Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits. *J Neurosci*. 2003;23:876–82.
22. Brambrink AM, Evers AS, Avidan MS, et al. Isoflurane-induced neuroapoptosis in the neonatal rhesus macaque brain. *Anesthesiology*. 2010;112:834–41.
23. Gentry KR, Steele LM, Sedensky MM, et al. Early developmental exposure to volatile anesthetics causes behavioral defects in *Caenorhabditis elegans*. *Anesth Analg*. 2013;116:185–9.
24. Sun X, Gartlid KD. On the mechanism by which bupivacaine conducts protons across the membranes of mitochondria and liposomes. *J Biol Chem*. 1992;267:19147–54.
25. Lee H, Sowa G, Vo N, et al. Effect of bupivacaine on intervertebral disc cell viability. *Spine J*. 2010;10:159–66.
26. Bosenberg A, Thomas J, Lopez T, et al. The efficacy of caudal ropivacaine 1, 2 and 3 mg/ml for postoperative analgesia in children. *Paediatr Anaesth*. 2002;12:53–8.
27. Hansen TG. Ropivacaine: a pharmacological review. *Expert Rev Neurother*. 2004;4:781–91.
28. Pitkanen MT. Body mass and spread of spinal anesthesia with bupivacaine. *Anesth Analg*. 1987;66:127–31.
29. Schnider TW, Minto CF, Bruckert H, et al. Population pharmacodynamic modeling and covariate detection for central neural blockade. *Anesthesiology*. 1996;85:502–12.
30. McCulloch WJ, Littlewood DG. Influence of obesity on spinal analgesia with isobaric 0.5% bupivacaine. *Br J Anaesth*. 1986;58:610–4.
31. Taivainen T, Tuominen M, Rosenberg PH. Influence of obesity on the spread of spinal analgesia after injection of plain 0.5% bupivacaine at the L3-4 or L4-5 interspace. *Br J Anaesth*. 1990;64:542–6.
32. Barclay DL, Renegar OJ, Nelson EW Jr. The influence of inferior vena cava compression on the level of spinal anesthesia. *Am J Obstet Gynecol*. 1968;101:792–800.
33. Carvalho B, Collins J, Drover DR, et al. ED(50) and ED(95) of intrathecal bupivacaine in morbidly obese patients undergoing cesarean delivery. *Anesthesiology*. 2011;114:529–35.
34. Kim WH, Lee JH, Ko JS, et al. The effect of body mass index on spinal anaesthesia for total knee replacement arthroplasty: a dose-response study. *Anaesth Intensive Care*. 2012;40:410–6.
35. Leino KA, Kuusniemi KS, Palve HK, et al. The effect of body mass index on the spread of spinal block in patients with rheumatoid arthritis. *J Anesth*. 2011;25:213–8.