

## Avaliação dos efeitos da ropivacaína sobre a reatividade vascular em artéria mesentérica de rato

*Assessment of the effects of ropivacaine on vascular reactivity in rat mesenteric artery*

Allan Carlos Araújo DE OLIVEIRA<sup>a</sup>, Anny Caroline Siqueira BRITTO<sup>a</sup>,  
Liane Maciel de Almeida SOUZA<sup>a</sup>, Márcio Roberto Viana dos SANTOS<sup>a</sup>,  
Patrícia dos Santos CUNHA<sup>a</sup>, Francisco Carlos GROPPPO<sup>b</sup>

<sup>a</sup>UFS – Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, SE, Brasil

<sup>b</sup>FOP – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, SP, Brasil

### Resumo

**Introdução:** A ropivacaína (ROPI) é um anestésico local de longa duração de ação, introduzido mais recentemente em Medicina, mas ainda não disponível para uso odontológico em tubetes. Estudos clínicos e com animais confirmam que a ROPI é um anestésico local eficaz e que possui um efeito vasoconstritor intrínseco. **Objetivo:** Avaliar os efeitos da ROPI sobre a reatividade vascular em artéria mesentérica isolada de rato, além de comparar esse efeito ao da lidocaína (LIDO) e avaliar o possível envolvimento do endotélio vascular na resposta induzida pela ROPI em anel de artéria mesentérica isolada de rato. **Material e método:** Foram utilizados 14 ratos Wistar machos (250-300g). Os animais foram eutanasiados e, através de uma incisão no abdome do animal, foi retirada a artéria mesentérica. Desta artéria, foram obtidos anéis (1-2 mm), que foram mantidos em cubas contendo 10 mL de solução nutritiva de Tyrode mantida a 37 °C e gaseificada com carbogênio. Para o registro das contrações isométricas, cada anel foi suspenso, por linhas de algodão, a um transdutor de força conectado a um sistema de aquisição. **Resultado:** Tanto a LIDO como a ROPI não apresentaram efeito vasoconstritor sobre o tônus basal de anéis com endotélio funcional. Porém, quando os anéis foram pré-contraídos com fenilefrina, ambas as drogas foram capazes de induzir vasorrelaxamentos dependentes da concentração ( $E_{\max} = 31,7 \pm 3,3\%$ ;  $n = 6$ , para a LIDO;  $E_{\max} = 69 \pm 8\%$ ;  $n = 6$ , para a ROPI), que não foram alterados após a remoção do endotélio ( $E_{\max} = 28,7 \pm 1,3\%$ ;  $n = 7$ , para a LIDO;  $E_{\max} = 58,8 \pm 5,9\%$ ;  $n = 6$ , para a ROPI). Em anéis sem endotélio funcional, porém, pré-contraídos com solução despolarizante de Tyrode (KCl a 80 mM), o efeito vasorrelaxante induzido pela LIDO não apresentou alterações significativas ( $E_{\max} = 29 \pm 3\%$ ;  $n = 7$ ). Porém, o efeito da ROPI foi reduzido significativamente neste protocolo, bem como na presença de 1 mM de tetraetilamônio (TEA) ( $E_{\max} = 21,2 \pm 5,1\%$ ;  $n = 7$  e  $E_{\max} = 17,4 \pm 3,7\%$ ;  $n = 4$ , respectivamente). **Conclusão:** A ROPI produz efeito vasorrelaxante em artéria mesentérica superior isolada de rato pré-contraída com fenilefrina, sendo este independente da participação do endotélio. Este efeito parece envolver os canais para  $K^+$  na célula muscular lisa vascular.

**Descritores:** Ropivacaína; vasorrelaxamento; artéria mesentérica.

### Abstract

**Introduction:** Ropivacaine (ROPI) is a local anesthetic of long duration of action, more recently introduced in medicine, however is not available for dental use in tubes yet. Clinical and animal studies have confirmed that bupivacaine is an effective anesthetic that also has an intrinsic vasoconstrictor effect. **Objective:** To evaluate the effects of ropivacaine on vascular reactivity in isolated rat mesenteric artery, compare this to the effect of lidocaine (LIDO) and evaluate the possible involvement of the vascular endothelium induced by ROPI in isolated rat mesenteric artery ring response. **Material and method:** It was used 12 male Wistar rats (250-300g). The animals were euthanized and through an incision in the abdomen of the animal, the mesenteric artery was removed. Artery rings (1-2 mm) were obtained by the mesenteric artery, which were kept in vats containing 10 ml of Tyrode's nutrient solution kept at 37 °C and gassed with carbogen. For the recording of isometric contractions, each ring was suspended by cotton lines to a force transducer connected to a data acquisition system. **Result:** Both the LIDO as ROPI showed no vasoconstrictor effect on the basal tone of rings with functional endothelium. However, when the rings were precontracted with phenylephrine, both drugs were able to induce concentration-dependent vasorelaxation ( $E_{\max} = 31.7 \pm 3.3\%$ ,  $n = 6$  for LIDO and  $69 \pm 8\%$ ,  $n = 6$  for ROPI) that were not altered after removal of the endothelium ( $E_{\max} = 28.7 \pm 1.3\%$ ,  $n = 7$  for LIDO and  $E_{\max} = 58.8 \pm 5.9\%$ ,  $n = 6$  for ROPI). In rings without functional endothelium and precontracted with depolarizing Tyrode solution (80 mM KCl), the LIDO-induced

vasorelaxation was not significantly changed ( $E_{\max} = 29 \pm 3\%$ ,  $n = 7$ ). However, ROPI-induced vasorelaxation was reduced in this protocol and the presence of 1 mM tetraethylammonium (TEA) ( $E_{\max} = 21.2 \pm 5.1\%$ ,  $n = 7$  and  $E_{\max} = 17.4 \pm 3.7\%$ ,  $n = 4$ , respectively). **Conclusion:** ROPI produces vasorelaxant effect in rat superior mesenteric artery, which is independent of the participation of the endothelium. This effect seems to involve  $K^+$  channels in vascular smooth muscle cell.

**Descriptors:** Ropivacaine; vasorelaxation; artery mesenteric.

## INTRODUÇÃO

A primeira anestesia foi relatada por volta de 1844, com óxido nitroso e com finalidade exodôntica. A anestesia local surgiu em setembro de 1884, com o uso da cocaína, por Carl Köller, um Oftalmologista de Viena<sup>1</sup>.

Visto os diversos relatos de toxicidade com a cocaína, a Farmacologia evoluiu, até que foi desenvolvido o primeiro anestésico local, a procaína, no ano de 1899<sup>1</sup>.

Os anestésicos locais são classificados, de acordo com sua estrutura química, em éster ou amida. Os que têm maior aplicação clínica são os anestésicos do tipo amida, compreendidos pela mepivacaína, lidocaína, articaína, bupivacaína e ropivacaína<sup>2</sup>. Assim, a ROPI promete ser um grande anestésico na indústria farmacêutica, por apresentar baixa toxicidade e ser de longa duração<sup>3,4</sup>. É um anestésico local de longa duração de ação, introduzido mais recentemente em Medicina, mas ainda não disponível para uso odontológico em tubetes. Alguns poucos trabalhos avaliaram a eficácia anestésica da ROPI em técnica de bloqueio e infiltração, em Odontologia<sup>5-8</sup>. Experimentações *in vitro* e *in vivo* têm demonstrado ser a ROPI menos neurotóxica e cardiotoxica que a bupivacaína, devido à sua forma levógira de amino-amida<sup>3,4</sup>. Liga-se 94% às proteínas plasmáticas e possui alta lipossolubilidade<sup>9</sup>.

Estudos clínicos e com animais confirmam que a ROPI é um anestésico local eficaz e que possui um efeito vasoconstritor intrínseco. Pesquisadores descreveram que a ROPI reduz o fluxo sanguíneo capilar cutâneo de porcos, quando administrada por via subcutânea<sup>10</sup>. Outros estudos experimentais mostraram que este anestésico promove contração das arteríolas cerebrais de cães e reduz significativamente o fluxo sanguíneo em nervos periféricos de ratos<sup>11,12</sup>. Contudo, os estudos envolvendo suas propriedades farmacocinéticas são bastante divergentes, sobretudo aqueles que enveredam pela sua vasoconstrição intrínseca, sua propriedade mais relevante<sup>11,13</sup>.

Assim, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da ROPI sobre a reatividade vascular em artéria mesentérica isolada de rato, além de comparar este efeito com o efeito induzido pela LIDO e avaliar o possível envolvimento do endotélio vascular e dos canais para  $K^+$  nessa resposta. A artéria mesentérica foi escolhida neste estudo por ser uma artéria de resistência e, portanto, refletir melhor os possíveis efeitos sobre a reatividade vascular nos leitos menores.

## MATERIAL E MÉTODO

Este trabalho foi submetido e aprovado pelo CEPA - Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Sergipe, sob o protocolo de número 83/2011.

### 1. Animais

Foram utilizados 14 ratos Wistar machos normotensos (*Rattus norvegicus*), jovens adultos (2 meses) pesando entre 250 e 300g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe, sendo mantidos no Biotério Setorial da Universidade Federal de Sergipe sob condição controlada de temperatura e ciclo claro-escuro de 12 horas (6-18 horas), tendo livre acesso a alimentação e água.

### 2. Drogas

Durante a realização dos experimentos, foram utilizadas as seguintes drogas: ROPI (Cristália), LIDO (Cristália), fenilefrina (FEN), acetilcolina (Ach), tetraetilamônio (TEA) e tiopental. Para a preparação das soluções estoques, todas as drogas foram dissolvidas em água destilada, mantidas a 0 °C e, quando necessário, estas foram diluídas em solução de Tyrode para concentrações desejadas.

### 3. Caracterização dos efeitos da ROPI sobre a reatividade vascular em artéria mesentérica de rato

#### 3.1. Preparação das artérias

A eutanásia dos animais foi realizada por dessangramento, sob anestesia com tiopental e através de uma incisão no abdome do animal; foi então retirada a artéria mesentérica superior. De cada segmento arterial, obteve-se até quatro anéis (1-2 mm) livres de tecido conjuntivo e adiposo. Os anéis de artéria foram mantidos em cubas contendo 10 mL de solução nutritiva de Tyrode (concentração em mM: NaCl, 158.3; KCl, 4.0;  $CaCl_2$ , 2.0;  $MgCl_2$ , 1.05;  $NaH_2PO_4$ , 0.42;  $NaHCO_3$ , 10.0, e glucose, 5.6), a 37 °C e gaseificada com uma mistura carbogênica (95% de  $O_2$  e 5% de  $CO_2$ ). Os anéis ficaram suspensos por linhas de algodão fixadas a um transdutor de força pré-calibrado e acoplado a um sistema de aquisição (Biodata, BIOMED), para o registro das contrações isométricas. Cada anel foi então submetido a uma tensão constante de 0,75g por um período de, no mínimo, 60 min. Durante este tempo, a solução nutritiva foi trocada a cada 15 minutos, para prevenir a interferência de metabólitos. Os anéis sem endotélio foram obtidos mecanicamente através do atrito entre as paredes internas do vaso com o auxílio de uma haste de aço.

A presença ou a ausência do endotélio funcional foi verificada pela habilidade, medida em percentagem (%), da Ach (1  $\mu M$ ) em relaxar os anéis pré-contraídos com 1  $\mu M$  de fenilefrina. Foram então considerados com endotélio funcional, os anéis que apresentarem relaxamentos superiores a 75% sobre a pré-contracção com fenilefrina. Já os anéis com relaxamentos

inferiores a 10% foram considerados sem endotélio funcional. Anéis com relaxamentos entre 10 e 75% foram descartados.

### 3.2. Protocolos experimentais

#### 3.2.1. Avaliação do efeito da ROPI e da LIDO sobre o tônus basal de anéis de artéria mesentérica

Após o período de estabilização e a verificação da presença do endotélio funcional, foram adicionadas cumulativamente à cuba, no tônus basal, concentrações crescentes da ROPI ( $10^{-12}$  –  $3 \times 10^{-5}$  M, n = 4) e da LIDO ( $10^{-12}$  –  $3 \times 10^{-5}$  M, n = 4), para obtenção de uma curva-resposta.

#### 3.2.2. Avaliação do efeito da ROPI e da LIDO sobre anéis de artéria mesentérica pré-contraídos com fenilefrina

Após o período de estabilização e a verificação da presença do endotélio funcional, os anéis foram pré-contraídos com FEN (1  $\mu$ M) e, sobre a fase tônica desta contração, foram adicionadas separadamente à cuba concentrações crescentes da ROPI ( $10^{-12}$  –  $3 \times 10^{-5}$  M, n = 6) e da LIDO ( $10^{-12}$  –  $3 \times 10^{-5}$  M, n = 6), para obtenção de uma curva concentração-resposta.

#### 3.2.3. Avaliação da participação do endotélio vascular nos efeitos da ROPI e da LIDO em anel de artéria mesentérica isolada de rato

Para avaliar a participação do endotélio vascular no efeito induzido pela ROPI e pela LIDO, curvas semelhantes ao protocolo anterior foram obtidas em anéis sem endotélio funcional.

#### 3.2.4. Avaliação da participação dos canais para $Ca^{2+}$ nos efeitos da ROPI e da LIDO em anel de artéria mesentérica isolada de rato

Um possível efeito da ROPI e da LIDO sobre os canais para  $Ca^{2+}$  foi investigado construindo curvas concentração-resposta para a ROPI ( $10^{-12}$  –  $3 \times 10^{-5}$  M, n = 7) e a LIDO ( $10^{-12}$  –  $3 \times 10^{-5}$  M, n = 7) em anéis sem endotélio e na presença de altas concentrações de  $K^+$ . Neste protocolo experimental, a solução de Tyrode da cuba foi trocada pela solução despolarizante de Tyrode com KCl a 80 mM (KCl 80), sendo que as preparações permaneceram nesta solução até o final do experimento.

#### 3.2.5. Avaliação da participação dos canais para $K^+$ nos efeitos da ROPI em anel de artéria mesentérica isolada de rato

Um possível efeito da ROPI sobre os canais para  $K^+$  foi investigado obtendo curvas concentração-resposta para a ROPI ( $10^{-12}$  –  $3 \times 10^{-5}$  M, n = 4) em anéis sem endotélio pré-incubados com 1 mM de TEA, um bloqueador não seletivo de canais para  $K^{+14}$ .

#### 3.2.6. Análise estatística

Os valores foram expressos como a média + erro padrão da média (e.p.m.). Quando necessário, foi utilizada análise de variância 'two-way' (ANOVA), seguida do pós-teste de

Bonferroni, para avaliar a significância das diferenças entre as médias. Em todos estes procedimentos, foi utilizado o programa estatístico GraphPad Prism versão 3.02.

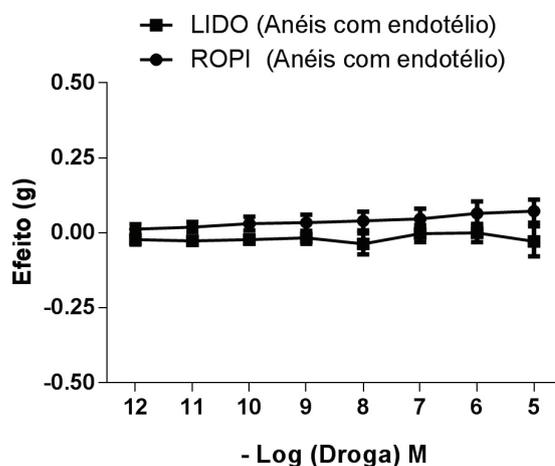
## RESULTADO

Para avaliar um possível efeito vasoconstritor apresentado pela LIDO e pela ROPI, foram realizados experimentos em que anéis com endotélio funcional foram mantidos sobre o tônus basal e, em seguida, foram adicionadas à cuba concentrações crescentes e cumulativas da LIDO e da ROPI. Ambas as substâncias não apresentaram atividade vasoconstritora (Figura 1).

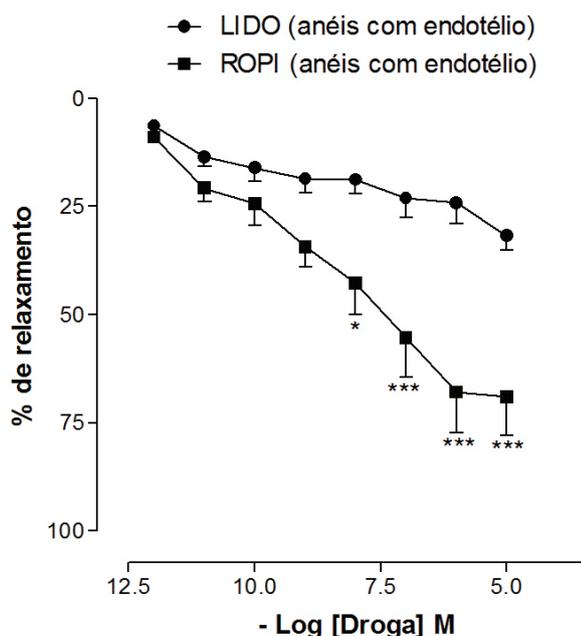
Diante desse resultado, buscou-se avaliar um possível efeito vasorrelaxante apresentado pela LIDO e pela ROPI em anéis de artéria mesentérica. Para isso, foram obtidas curvas em anéis com endotélio funcional e pré-contraídos com fenilefrina. Tanto a LIDO como a ROPI foram capazes de induzir relaxamentos dependentes da concentração ( $E_{\text{máx}} = 31,7 \pm 3,3\%$  e  $69 \pm 8\%$ , respectivamente; n = 6). O vasorrelaxamento obtido para a ROPI foi significativamente maior do que aquele obtido para a LIDO (Figura 2).

Em seguida, para avaliar a participação do endotélio nas respostas apresentadas até então, foram obtidas curvas para a LIDO e para a ROPI em preparações com anéis de artéria sem endotélio funcional; observou-se que os efeitos vasorrelaxantes apresentados pelas duas substâncias estudadas não foram significativamente diferentes daquele obtido na condição em que os anéis estavam com endotélio funcional ( $E_{\text{máx}} = 28,7 \pm 1,3\%$ ; n = 7 vs.  $E_{\text{máx}} = 31,7 \pm 3,3\%$ ; n = 6, para a LIDO e  $E_{\text{máx}} = 58,8 \pm 5,9\%$ ; n = 6 vs.  $E_{\text{máx}} = 69 \pm 8\%$ ; n = 6, para a ROPI) (Figura 3).

Um possível envolvimento dos canais para  $Ca^{2+}$  nas respostas apresentadas pela LIDO e pela ROPI foi investigado, obtendo curvas em que os anéis foram pré-contraídos com solução despolarizante de Tyrode (KCl a 80 mM). Como mostrado na Figura 4, nestas preparações, o efeito apresentado pela LIDO foi semelhante nas duas condições ( $E_{\text{máx}} = 29 \pm 3\%$ ; n = 7



**Figura 1.** Curvas concentração-resposta para a LIDO ( $10^{-12}$  -  $10^{-5}$  M; n = 5) e a ROPI ( $10^{-12}$  -  $10^{-5}$  M; n = 7) sobre o tônus basal de anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato, com endotélio funcional. Os valores estão expressos como média  $\pm$  E.P.M.



**Figura 2.** Curvas concentração-resposta para a LIDO ( $10^{-12}$  –  $3 \times 10^{-5}$  M) e a ROPI ( $10^{-12}$  –  $3 \times 10^{-5}$  M) em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato, com endotélio funcional (n=6), pré-contraídos com FEN ( $1 \mu\text{M}$ ). Os valores estão expressos como média  $\pm$  E.P.M. Os dados foram analisados por ANOVA de duas vias, seguido pelo pós-teste de Bonferroni. \* $p < 0,05$  e \*\*\* $p < 0,001$  vs. LIDO.

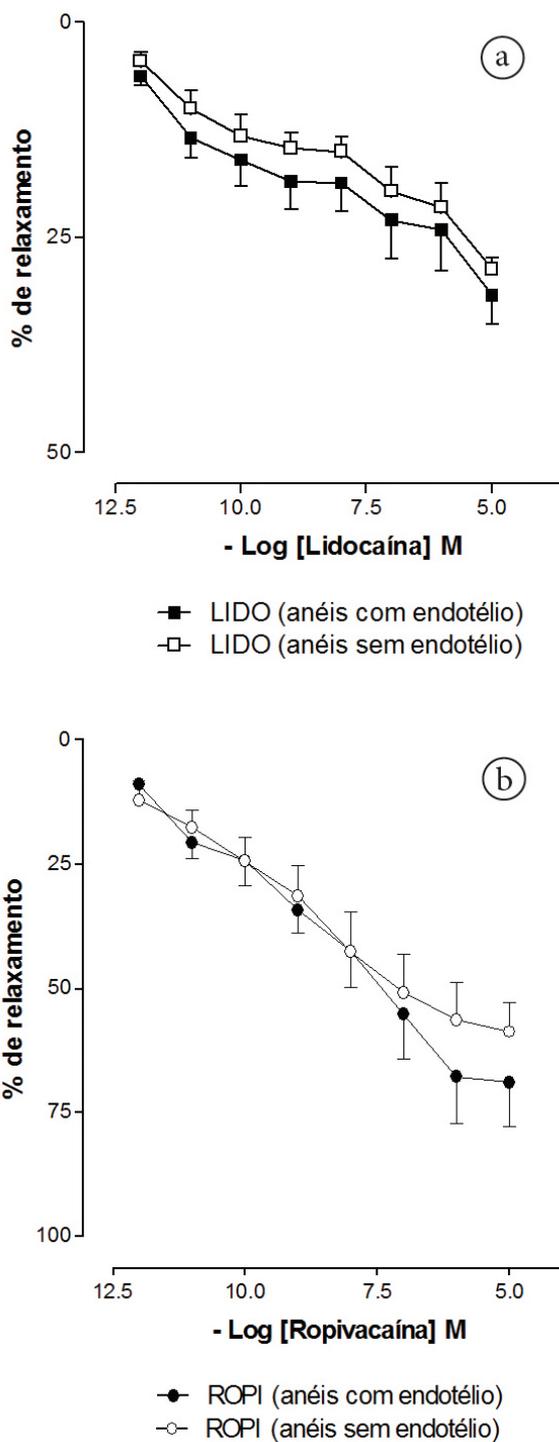
vs.  $E_{\text{máx}} = 28,7 \pm 1,3\%$ ; n = 7); mas, por outro lado, o efeito vasorrelaxante apresentado pela ROPI foi significativamente menor quando comparado àquele obtido em anéis sem endotélio funcional pré-contraídos com fenilefrina ( $E_{\text{máx}} = 21,2 \pm 5,1\%$ ; n = 7 vs.  $E_{\text{máx}} = 58,8 \pm 5,9\%$ ; n = 6).

Para avaliar uma possível participação dos canais para  $K^+$  no efeito apresentado pela ROPI, os anéis sem endotélio funcional foram pré-incubados com 1 mM de TEA. O TEA, na concentração utilizada neste estudo é capaz de inibir, de forma não seletiva, os canais para  $K^{+14}$ . Neste protocolo, o efeito vasorrelaxante induzido pela ROPI foi significativamente reduzido quando comparado àquele apresentado pela droga na ausência deste inibidor ( $E_{\text{máx}} = 17,4 \pm 3,7$ , n = 4 vs.  $E_{\text{máx}} = 58,8 \pm 5,9\%$ , n = 6) (Figura 5).

## DISCUSSÃO

Diferentemente dos outros anestésicos locais, a ROPI parece apresentar um efeito vasoconstritor intrínseco em experimentações in vivo e in vitro<sup>15-19</sup>. Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos vasculares da ROPI através de uma abordagem in vitro usando preparações de anel de artéria mesentérica superior isolada de rato e compará-los com os efeitos da LIDO, um anestésico local padrão usado na Odontologia.

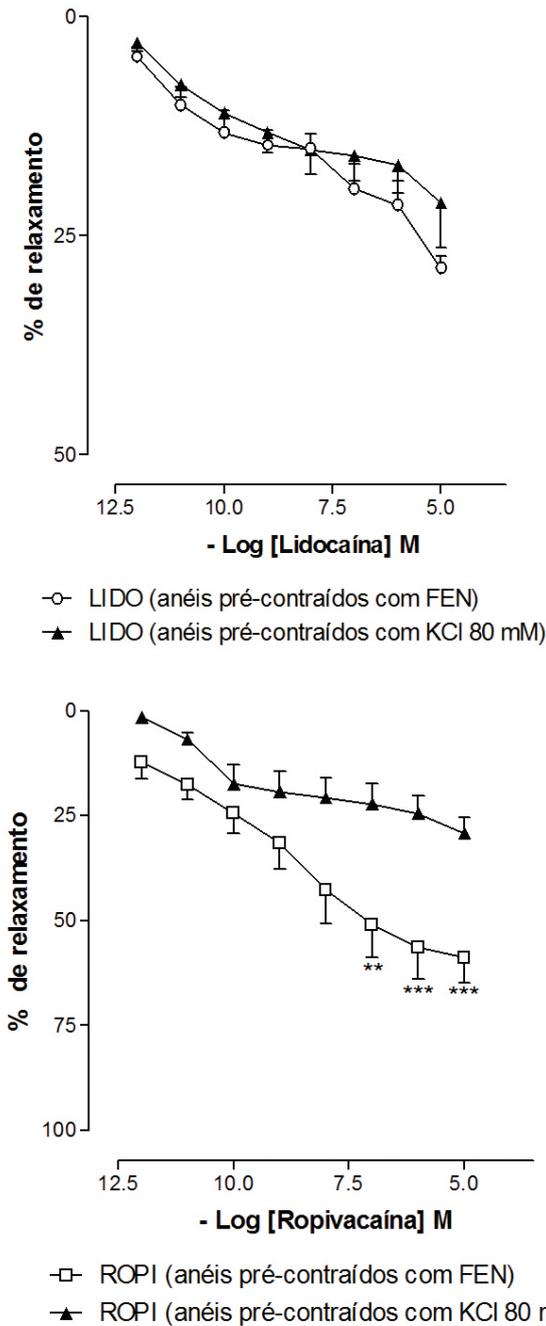
No presente estudo, foi mostrado que tanto a ROPI como a LIDO não apresentaram nenhum efeito contrátil sobre o tônus basal de anéis de artéria mesentérica de rato. Estes resultados corroboram os achados de Lin et al.<sup>20</sup>, que demonstraram que,



**Figura 3.** Curvas concentração-resposta em (a) para a LIDO ( $10^{-12}$  –  $3 \times 10^{-5}$  M; n = 7) e em (b) para a ROPI ( $10^{-12}$  –  $3 \times 10^{-5}$  M; n = 6) em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato, sem endotélio funcional, pré-contraídos com FEN ( $1 \mu\text{M}$ ). Os valores estão expressos como média  $\pm$  E.P.M.

em anéis de aorta de porco com endotélio intacto, a ROPI não produziu qualquer resposta vasoativa.

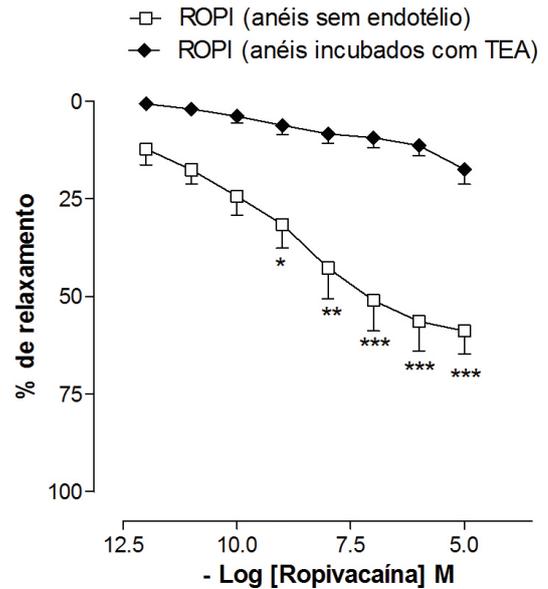
Resultados contrários aos observados no presente trabalho foram observados por Gherardini et al.<sup>15</sup>, em artérias mamárias internas de humanos, e por Nakamura et al.<sup>16</sup>, em artéria e veia femoral de cães. Em um experimento que aferiu os efeitos contráteis da ROPI in vitro em leitões mesentéricos arteriolares obtidos a partir de 22 ratos machos adultos, os pesquisadores



**Figura 4.** Curvas concentração-resposta para a LIDO (10-12 – 3 × 10-5 M) e para a ROPI (10-12 – 3 × 10-5 M) em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato sem endotélio funcional, pré-contraídos com FEN (1 µM) (n = 7) e com KCl 80 mM (n = 7). Os valores foram expressos como média ± e.p.m. Os dados foram analisados por ANOVA de duas vias seguido pelo pós-teste de Bonferroni. \*\*p <0,01 e \*\*\*p < 0,001 vs. LIDO.

concluíram que a ROPI apresenta um efeito vasoconstritor em artéria mesentérica de camundongos<sup>18</sup>. Em outro estudo envolvendo anestesia bulbar, a ROPI apresentou menor amplitude de pulso ocular associada à manutenção da pressão de perfusão ocular, sugerindo também um efeito vasoconstritor<sup>19</sup>.

A discrepância entre os resultados descritos acima e os do presente estudo possivelmente pode ser explicada pelo fato de que respostas a drogas podem variar a depender do tecido alvo, da espécie animal testada, das concentrações usadas e da



**Figura 5.** Curvas concentração-resposta para ROPI (10-12 – 3 × 10-5 M) em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato sem endotélio funcional, pré-contraídos com FEN (10 µM) antes e após a incubação com TEA (1 mM). Os valores foram expressos como média ± e.p.m. Os dados foram analisados por ANOVA de duas vias seguido pelo pós-teste de Bonferroni. \*p < 0,05 \*\*p <0,01 e \*\*\*p < 0,001 vs ROPI.

forma administrada: sistêmica ou local<sup>21</sup>. Enquanto em nosso estudo foram utilizados ratos, nos estudos acima referidos foram utilizados camundongos, cães e seres humanos. Além disso, em todos os estudos, em especial aquele em que se utilizou leito mesentérico perfundido<sup>18</sup>, a menor concentração de ROPI utilizada foi superior a 10<sup>-5</sup> M, ou seja, 80 vezes maior do que a utilizada no presente estudo. Estas discrepâncias impedem uma comparação mais precisa entre os achados. Entretanto, pode-se sugerir que a ROPI provavelmente apresente efeitos vasculares diversos a depender da espécie animal estudada, do leito vascular utilizado e/ou das concentrações usadas.

Como os anestésicos testados não apresentaram efeito vasoconstritor sobre o tônus basal, novos experimentos foram realizados para caracterizar melhor os efeitos vasorrelaxantes da ROPI e da LIDO. Portanto, em preparações de anéis pré-contraídos com 1 µM de fenilefrina, um agonista do receptor α<sub>1</sub>-adrenérgico, tanto a LIDO como a ROPI foram capazes de induzir relaxamentos dependentes da concentração em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato com endotélio funcional. Além disso, o vasorrelaxamento obtido para a ROPI foi significativamente maior do que aquele obtido para a LIDO.

Estudos corroboram estes resultados, demonstrando que, quando injetados em tecidos moles, todos os anestésicos locais apresentam um efeito vasorrelaxante<sup>17</sup>. Em estudo com anéis de aorta de porco, os resultados checaram que a ROPI produziu um relaxamento dependente da concentração em anéis pré-contraídos com fenilefrina e com endotélio intacto<sup>20</sup>.

Diante do resultado vasorrelaxante apresentado pelos anestésicos estudados, buscou-se avaliar então o mecanismo de ação envolvido neste efeito. Sabendo-se que o endotélio é um importante regulador do tônus vascular por liberar fatores

relaxantes derivados do endotélio – principalmente o NO e produtos derivados da ativação da ciclo-oxigenase (COX), tal como prostaciclina –, foram realizados experimentos com o objetivo de avaliar a participação do endotélio nesta resposta<sup>22,23</sup>. Para tanto, curvas para a LIDO e para a ROPI foram obtidas em anéis de artéria sem o endotélio funcional. Na Figura 3, as respostas vasorrelaxantes para a LIDO e a ROPI em anéis sem o endotélio funcional não foram significativamente diferentes daquelas obtidas na condição em que os anéis estavam com endotélio funcional. Isto sugere que o endotélio não parece ser importante para a expressão desta resposta e uma via de sinalização muscular pode estar envolvida.

Diferentemente do observado neste estudo, os resultados obtidos por Lin et al.<sup>20</sup> em aorta de cobaias demonstraram que a ROPI induz um vasorrelaxamento dependente do endotélio funcional. Estas diferenças podem ser explicadas pelo fato de os resultados de Lin et al.<sup>20</sup> terem sido obtidos em aorta de cobaias, ou seja, leito vascular e espécie animal diferentes daqueles usados no presente estudo. Estes achados reforçam ainda mais a afirmação de que a ROPI pode apresentar efeitos vasculares diversos a depender da espécie animal estudada ou do leito vascular utilizado<sup>24,25</sup>.

O envolvimento de vias de sinalização independente do endotélio também foi investigado, como o bloqueio dos canais para  $Ca^{2+}$  ou a abertura dos canais para  $K^+$ . Sabe-se que o aumento da concentração externa de  $K^+$  induz contração do músculo liso através da ativação de canais de  $Ca^{2+}$  operados por voltagem (Cavs) e consequente liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático. As contrações induzidas por altas concentrações de  $K^+$  são inibidas por bloqueadores de canais para  $Ca^{2+}$  ou por remoção de  $Ca^{2+}$  do meio externo, e são, desta forma, totalmente dependentes do influxo de  $Ca^{2+}$ . Este procedimento também impede parcialmente o efluxo de  $K^+$  e atenua relaxamentos mediados por abertura de canais para  $K^+$ <sup>26</sup>.

Dessa forma, para investigar um possível envolvimento dos canais para  $Ca^{2+}$  na resposta induzida pela LIDO e pela ROPI, curvas para os anestésicos estudados foram obtidas em anéis pré-contraídos com solução despolarizante de Tyrode (KCl 80 mM). Nestas preparações, a LIDO foi capaz de induzir um vasorrelaxamento que não foi diferente daquele obtido em anéis sem endotélio funcional pré-contraídos com fenilefrina, sugerindo que o vasorrelaxamento induzido pela ROPI possivelmente envolve os Cavs. Porém, o relaxamento induzido pela ROPI foi significativamente menor do que aquele observado

em anéis pré-contraídos com fenilefrina, o que sugere uma possível participação dos canais para  $K^+$  no efeito vasorrelaxante induzido por este anestésico.

A abertura de canais para  $K^+$  presente na membrana das células musculares vasculares provoca um aumento da saída de íons  $K^+$  do meio intracelular para o meio extracelular por difusão passiva, o que causa a hiperpolarização da membrana celular. Este estado de hiperpolarização conduz ao fechamento de canais de  $Ca^{2+}$  voltagem-dependentes e à consequente diminuição da entrada de íons  $Ca^{2+}$  para o interior da célula, causando o relaxamento vascular<sup>26</sup>.

Para reforçar a hipótese de que o efeito vasorrelaxante da ROPI envolveria os canais para  $K^+$  na célula muscular lisa vascular, foram realizados experimentos em que anéis de artéria pré-contraídos com FEN foram pré-incubados com 1 mM de TEA, um bloqueador não seletivo de canais de potássio<sup>14</sup>. Nestas preparações, a resposta induzida pela ROPI foi significativamente atenuada, reforçando que, possivelmente, há um envolvimento dos canais para  $K^+$  neste efeito.

Em estudo utilizando anéis de aorta de rato pré-contraídos com KCl ( $3 \times 10^{-2}$  M), a ROPI foi capaz de induzir uma resposta bifásica dependente da concentração, na qual foi observada contração nas concentrações mais baixas ( $3 \times 10^{-5}$  a  $3 \times 10^{-4}$  M), seguida pelo abrandamento da contração em concentrações mais elevadas ( $10^{-3}$  a  $3 \times 10^{-3}$  M). É difícil de explicar a dependência da concentração do mecanismo subjacente aos efeitos bifásicos de ROPI na contração vascular, especialmente o relaxamento em concentrações mais elevadas<sup>27</sup>.

## CONCLUSÃO

Estes resultados demonstram que a ROPI produz efeito vasorrelaxante, em artéria mesentérica superior de rato, sendo este efeito independente da participação do endotélio. Esse efeito parece, ainda, ser causado pela abertura de canais para  $K^+$  na célula muscular lisa vascular. É possível sugerir que a ROPI apresenta efeitos diversos sobre a reatividade vascular e que este efeito depende principalmente do leito arterial estudado.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Universidade Federal de Sergipe e ao Laboratório Cristália, pela colaboração, pela base e pelo incentivo à pesquisa.

## REFERÊNCIAS

1. Calatayud J, Gonzales A. History of the development and evolution of local anesthesia since the coca leaf. *Anesthesiology*. 2003; 98(6): 1503-8. <http://dx.doi.org/10.1097/00000542-200306000-00031>
2. Ramacciato JC, Motta RHL, Groppo FC, Volpato MC, Ranali J. Anestésicos locais. *Rev Assoc Paul Cir Dent*. 2007; 61(4): 486-7.
3. Delfino J. Estudo comparativo entre a bupivacaína 0,5% e ropivacaína 0,5% isobáricas na anestesia subaracnóidea para cirurgia ortopédica. *Rev Bras de Anesthesiol*. 1999; 49(3): 160-4.
4. Delfino J. Estudo comparativo entre a ropivacaína 0,5% e 0,75% isobáricas na anestesia subaracnóidea para cirurgia ortopédica. *Rev Bras de Anesthesiol*. 2000; 50(3): 207-11.
5. Kennedy M, Reader A, Beck M, Weaver J. Anesthetic efficacy of ropivacaine in maxillary anterior infiltration. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2001; 91(4):406-12. PMID:11312459. <http://dx.doi.org/10.1067/moe.2001.114000>

6. Ernberg M, Kopp S. Ropivacaine for dental anesthesia: a dose-finding study. *J Oral Maxillofac Surg.* 2002; 60(9): 1004-10. <http://dx.doi.org/10.1053/joms.2002.34409>
7. Axelsson S, Isacson G. The efficacy of ropivacaine as a dental local anaesthetic. *Swed Dent J.* 2004; 28(2): 85-91. PMID:15272513.
8. El-Sharawy E, Yagiela JA. Anesthetic efficacy of different ropivacaine concentrations for inferior alveolar nerve block. *Anesth Prog.* 2006; 53(1): 3-7. [http://dx.doi.org/10.2344/0003-3006\(2006\)53\[3:AEODRC\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.2344/0003-3006(2006)53[3:AEODRC]2.0.CO;2)
9. Ramos G, Pereira E, Simonetti MPB, Lemos Neto SP, Mendonça M, Neto JRP. Alcalinização da ropivacaína 0,75% para bloqueio peridural. *Rev Bras de Anestesiologia.* 2000; 50(6): 442-9.
10. Kopacz DJ, Carpenter RL, Mackey DC. Effect of ropivacaine on cutaneous capillary blood flow in pigs. *Anesthesiology.* 1989; 71(1): 69-74. <http://dx.doi.org/10.1097/0000542-198907000-00013>
11. Iida H, Ohata H, Iida M, Nagase K, Uchida M, Dohi S. The differential effects of stereoisomers of ropivacaine and bupivacaine on cerebral pial arterioles in dogs. *Anesth Analg.* 2001; 93(6): 1552-6. <http://dx.doi.org/10.1097/0000539-200112000-00046>
12. Bouaziz H, Iohom G, Estebe JP, Campana WM, Myers RR. Effects of levobupivacaine and ropivacaine on rat sciatic nerve blood flow. *Br J Anaesth.* 2005 Nov; 95(5): 696-700. PMID:16183680. <http://dx.doi.org/10.1093/bja/aei242>
13. Malamed SF. Local anesthesia. *J Calif Dent Assoc.* 1998 Sep; 26(9): 657-60. PMID:9879233.
14. Cook NS. Effect of some potassium channel blockers on contractile responses of the rabbit aorta. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1989; 13(2): 299-306. <http://dx.doi.org/10.1097/00005344-198902000-00019>
15. Gherardini G, Samuelson U, Aberg JJB, Sjostrand N. Comparison of vascular effects of ropivacaine and lidocaine on isolated rings of human arteries. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1995 Aug; 39(6): 765-8. PMID:7484031. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-6576.1995.tb04167.x>
16. Nakamura K, Toda H, Kakuyama M, Nishiwada M, Yamamoto M, Hatano Y, et al. Direct vascular effect of ropivacaine in femoral artery and vein of the dog. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1993 Apr; 37(3): 269-73. PMID:8517104. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-6576.1993.tb03714.x>
17. Simonetti MPB. Ropivacaína: estado atual e perspectivas futuras. *Rev Bras Anestesiologia.* 1995; 45(2): 131-40.
18. Timponi CF, Oliveira NE, Arruda RM, Meyrelles SS, Vasquez EC. Effects of the local anaesthetic ropivacaine on vascular reactivity in the mouse perfused mesenteric arteries. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2006 May; 98(5): 518-20. PMID:16635112. [http://dx.doi.org/10.1111/j.1742-7843.2006.pto\\_397.x](http://dx.doi.org/10.1111/j.1742-7843.2006.pto_397.x)
19. Govêia CS, Magalhães E. Ropivacaine in peribulbar anesthesia vasoconstrictive properties. *Rev Bras Anestesiologia.* 2010; 60(5): 495-512. [http://dx.doi.org/10.1016/S0034-7094\(10\)70061-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0034-7094(10)70061-1)
20. Lin PL, Huan, HH, Fan SZ, Tsai MC, Lin CH, Huang CH. Effect of ropivacaine on endothelium-dependent phenylephrine-induced contraction in guinea pig aorta. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2007 Nov; 51(10): 1388-93. PMID:17944643. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-6576.2007.01443.x>
21. Herlihy JT, Berardo PV. Effect of preload on rat aortic smooth muscle sensitivity to vasoactive agents. *Pharmacology.* 1986; 33(1): 39-45. <http://dx.doi.org/10.1159/000138198>
22. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev.* 1991; 43(2): 109-42. PMID:1852778.
23. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature.* 1980 Nov; 288(5789): 373-6. PMID:6253831. <http://dx.doi.org/10.1038/288373a0>
24. Adegunloye BI, Sofola OA. Differential responses of rat aorta and mesenteric artery to norepinephrine and serotonin in vitro. *Pharmacology.* 1997 Jul; 55(1): 25-31. PMID:9309798. <http://dx.doi.org/10.1159/000139509>
25. Low AM, Kotecha N, Neild TO, Kwan CY, Daniel EE. Relative contributions of extracellular Ca<sup>2+</sup> and Ca<sup>2+</sup> stores to smooth muscle contraction in arteries and arterioles of rat, guinea-pig, dog and rabbit. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 1996 Apr; 23(4): 310-6. PMID:8717067. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1681.1996.tb02829.x>
26. Karaki H, Weiss GB. Calcium release in smooth muscle. *Life Sciences.* 1998; 42(2): 111-22. [http://dx.doi.org/10.1016/0024-3205\(88\)90674-1](http://dx.doi.org/10.1016/0024-3205(88)90674-1)
27. Tokinaga Y, Ogawa K, Yu J, Kuriyam T, Minonishi T, Hatano Y. Mechanism of the ropivacaine-induced increase in intracellular Ca<sup>2+</sup> concentration in rat aortic smooth muscle. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2007 Oct; 51(9): 1155-60. PMID:17714580.

## CONFLITOS DE INTERESSE

---

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

## AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

---

Allan Carlos Araújo de Oliveira

Departamento de Odontologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, UFS – Universidade Federal de Sergipe, Rua Claudio Batista, s/n, Santório, 49060-108 Aracaju - SE, Brasil

e-mail: allan\_tapera@hotmail.com

Recebido: Janeiro 14, 2014

Aprovado: Abril 27, 2014