

ANESTÉSICOS LOCAIS: REVISANDO O MECANISMO DE AÇÃO MOLECULAR

AURIGENA ANTUNES DE ARAÚJO FERREIRA¹
INARA DANTAS DA SILVA²
RODRIGO DOS SANTOS DINIZ²
GERLANE COELHO BERNARDO GUERRA¹

1. Prof. Adjunta da Disciplina de Farmacologia da UFRN. Departamento de Biofísica e Farmacologia. Departamento de Biofísica e Farmacologia, Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte(UFRN), Natal, RN, Brasil Endereço: Departamento de Biofísica e Farmacologia, Centro de Biociências/UFRN. Av. Senador Salgado Filho, S/N, Campus Universitário, Lagoa Nova, 59072-970, Natal, RN, Brasil. E-mail:aurigena@ufrnet.br
2. Discente do Curso de Farmácia da UFRN.

INTRODUÇÃO

Os anestésicos locais são bases fracas que agem no axônio, bloqueando de modo reversível a geração e condução do impulso nervoso. Esses fármacos têm ação sob qualquer parte do sistema nervoso e em qualquer tipo de fibra. O seu uso têm se dado em larga escala na clínica médica e odontológica. Além de se prestarem ao uso nos procedimentos cirúrgicos, estão sendo associados ao tratamento da dor crônica, com os opióides, o que reduz a tolerância destes, no tratamento da artrite reumatóide e câncer (ROCHA et al, 2002)

O primeiro anestésico local foi a cocaína, extraído de folhas de *Erythroxylon coca*, isolado em 1860, por Albert Niemann. Outros anestésicos locais, do tipo éster, surgiram depois, entre eles, a procaína (1905), tetracaína (1932) e cloroprocaína (1952). Os anestésicos locais do tipo amida foram introduzidos, em 1948, com a lidocaína, que serviu de padrão para síntese de outros anestésicos locais dentro deste grupo (CATTERAL & MACKIE, 2003).

Os canais têm sido uma grande incógnita para decifrar os processos biológicos. Estudos como o de Fujiyoshi Et Al (2002) elucidaram a estrutura e função dos canais de água, sendo esse conhecimento promissor para o desenho de novas terapêuticas para muitas doenças ocasionadas pelos distúrbios no balanço de água. A estrutura dos canais de água rendeu a Peter Agre e Roderick MacKinnon o prêmio Nobel de química.

O mecanismo de ação dos anestésicos locais tem sido mais bem esclarecido nas últimas décadas, através de investigações realizadas sobre membrana, a respeito das interações químicas das formas moleculares/ionizadas do anestésico local, bem como da seqüência dos aminoácidos nos canais de sódio. *O objetivo desse artigo é fazer uma revisão da literatura a respeito do mecanismo de ação molecular dos anestésicos locais.*

MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de uma revisão retrospectiva de trabalhos científicos. A identificação dos artigos foi realizada através de uma busca bibliográfica na base de dados PubMed (National Library of Medicine), Lilacs e Medline. Foram utilizadas como palavras-chave: "Local anesthetics". Foram encontrados 20.345 PubMed, 351 Lilacs e 10.973 Medline. A busca foi refinada utilizando-se os termos: "Local anesthetics" "AND" "Action Mechanism". Foram encontrados 300 PubMed, 2 Lilacs e 128 Medline. Como critério de inclusão foram considerados apenas os artigos publicados, entre 1995 e 2005, e estudos experimentais realizados com modelos de membrana ou em animais, publicados em português, inglês ou espanhol.

RESULTADOS

A busca bibliográfica resultou em nove artigos científicos. Na Tabela 1 (página 16) estão descritos os autores, o ano do estudo, objetivo, modelo experimental, método de análise e mecanismo de ação proposto.

DISCUSSÃO

Os neurônios são células, cujas membranas plasmáticas possuem características peculiares. As fibras nervosas podem apresentar um revestimento de mielina, que é formado pelas membranas plasmáticas de células da glia, principalmente células de Schwann. Entre as células gliais, que envolvem o axônio, existem pequenos espaços, os nódulos de Ranvier, onde a membrana do neurônio fica exposta. A membrana do axônio

Tabela 1. Descrição dos artigos e o mecanismo de ação dos anestésicos locais propostos

Autor/Ano	Objetivo	Modelo experimental	Método de Análise	Mecanismo de Ação
Tsang et al (2005)	Verificar se a substituição da Trp1531, aboli ou atenua o bloqueio dos AL	Mutação na expressão do triptofano em <i>Xenopus laevis</i> oocytes	Registro eletrofisiológico	Abolição ou atenuação significativa da indução dos AL ¹
Fraceto et al (2005)	Mensuração do coeficiente de partição da lidocaína, mepivacaína, bupivacaína e etidocaína em vesículas	AL adicionados aos lipossomas obtidos de Fosfatidilcolina de ovo (EPC)	H-NMR	Lidocaína e Mepivacaína aumenta a mobilidade do núcleo de colina, liberando a ligação eletrostática aminofosfato entre as moléculas da EPC adjacentes. Bupivacaína e etidocaína aumenta a mobilidade de todos os núcleos glicóis e colinas. A Bupivacaína e etidocaína tem inserção aprofundada na bicamada lipídica em relação a Lidocaína e Mepivacaína
Tsuchiya et al (2005)	Estudar a retenção e atividade dos AL na membrana	Membranas lipossomais com bicamada lipídica	Cromatografia HPLC	A potência dos anestésicos locais é reduzida nos tecidos inflamados
Fraceto & Paula (2004)	Comparar os efeitos da lidocaína e benzocaínas lipídeos de membrana	Membranas de eritrócito humano	Ressonância Magnética Nuclear de P e H	O nível de protonamento do AL no pH fisiológico interfere no coeficiente de partição, ou seja, na interação entre o AL protonado e resíduos de aminoácidos e/ou lipídios carregados negativamente
Bai et al (2003)	Investigar o sítio de ligação dos AL na IVS6	Metagênese das culturas de musculatura esquelética de ratos adultos	Potencial elétrico	Quando o anestésico local liga-se estabiliza o canal ou induz a inativação
Yarov-Yarovoy et al (2001)	Mutação na alanina para investigar o papel dos resíduos de aminoácidos no segmento transmembrana IIS6	Mutação na expressão da alanina no <i>Xenopus laevis</i> oocytes	Registro eletrofisiológico	O aminoácido contribui para alta afinidade do sítio receptor para o bloqueio dos AL
Louro et al (1998)	Avaliar a força de interação das aminas terciárias dos AL com grupo carboxila na membrana	Ácido Estérico e fosfatidilcolina de ovo utilizando a dibucaína	Espectroscopia ESR	A associação dos anestésicos locais a membrana tem alta afinidade pelo grupos carboxilas na superfície de membrana os resíduos negativos dos grupamentos carboxila localizados próximo aos grupos lipídeos junto a interface lipídeo proteína de um canal iônico pode dar ao receptor sítios que requerem especificidade
Wright et al (1998)	Identificar como as mutações em aminoácidos afeta a afinidade dos anestésicos locais	Mutação em cultura de células	Registro eletrofisiológico	A mutação da lisina na região receptora do AL afeta a transição conformacional do receptor do estado de baixa afinidade para o estado de alta afinidade.
Yarov-Yarovoy et al (1995)	Avaliar o sistema de inativação do segmento IVS6 quando da metagênese da alanina	Oocytes com metagênese foram introduzidos em Cérebro de ratos	Registro eletrofisiológico	Aparentemente a valina 1774 e fenilalanina 1764 tem papel na inativação rápida

¹ AL: Anestésicos locais

é formada por uma bicamada lipídica, principalmente, pelos glicerofosfolipídeos, esfingolipídeos e os esteróis. A porção hidrofílica destes lipídeos pode apresentar grupamento OH, álcoois polares ou grupos fosfato (LENNINGER et al, 1995). Os canais de sódio do axônio são proteínas heterotriméricas, formadas por subunidades protéicas alfa (260.000 Da), beta 1 (36.000 Da) e beta 2 (33.000 Da). Existem estudos mostrando variantes da subunidade protéica alfa que forma o canal de Na⁺, o que teria implicações na alteração do limiar da dor nos diferentes tecidos e entre os indivíduos (OGATA & OHISHI, 2002).

A subunidade alfa é formada por 2005 aminoácidos, com quatro áreas de domínio protéico I, II, III e IV, que por sua vez são constituídas cada uma delas por seis segmentos transmembrana (OGATA & OHISHI, 2002).

Todos os anestésicos locais podem ser divididos em três porções: uma porção hidrofóbica formada por anel aromático, uma porção hidrofílica, sendo uma amina terciária ou quaternária e uma cadeia intermediária que caracteriza o anestésico local, neste caso um grupamento amida ou éster.

Os anestésicos locais do grupamento amida que tem os maiores substituintes alquila são ropivacaína, bupivacaína e etidocaína. Enquanto a bupivacaína possui uma butila, a ropivacaína apresenta uma propila como substituinte do anel piperidínico da porção hidrofílica da molécula. A etidocaína possui o grupamento amina ligado a alcanos como etila e propila, mas o carbono ligado ao hidrogênio tem como substituinte uma etila. A mepivacaína, embora possua um anel piperidínico, possui como substituinte uma metila (Figura 1).

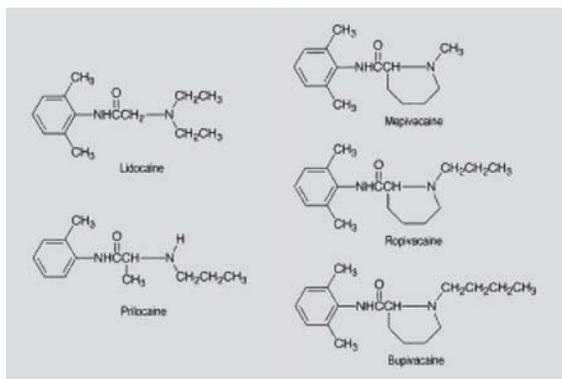


Figura 1. Estrutura química de alguns anestésicos locais.

O sal cloridrato do anestésico local libera no organismo a respectiva espécie não dissociada ou protonada, que interage com grupamentos negativos existentes na superfície interna no canal de sódio ou com os fosfolipídeos de membrana.

Por serem moléculas anfifílicas, os anestésicos locais têm grande afinidade pela membrana celular. Duas são as teorias propostas para explicar o mecanismo de ação: uma que atribui a ligação entre o anestésico local com aminoácidos do canal de sódio voltagem-dependente, e a que considera a interação dos anestésicos locais com lipídeos da membrana, chamada de hipótese do lipídeo (FRACETO & PAULA, 2004).

O estudo de Tsuchiya et al (2005), realizado com membrana lipossomal, sem proteínas, mostrou que os anestésicos locais se distribuem nas porções hidrofóbicas da bi-camada lipídica, alterando a fluidez da membrana, de forma que a mesma aumenta de forma crescente para mepivacaína, prilocaína, lidocaína, ropivacaína e bupivacaína.

O estudo, realizado por Franceto e Paula (2004), com membranas de eritrócitos, verificou que, possivelmente, o maior coeficiente de partição lipídeo/água da lidocaína indica haver interação entre o anestésico protonado e resíduos de aminoácidos das proteínas e/ou com lipídeos carregados negativamente na membrana do eritrócito. Por sua vez, Fraceto et al (2005), ao verificarem o coeficiente de partição da lidocaína, mepivacaína, bupivacaína e etidocaína em vesículas, constataram as mudanças eletrostáticas provocadas por estas moléculas na bicamada lipídica. Os anestésicos com características hidrofóbicas apresentam maiores interações com a bicamada lipídica.

Louro et al (1998), ao verificarem a interação do anestésico local junto a grupos carboxila na membrana, constataram a necessidade de especificidade para os sítios receptores.

Alguns estudos demonstram a interação dos anestésicos locais aminoácidos existentes nos canais de sódio. O estudo de Mcphee et al (1995) mostrou a importância da área de domínio IV, seguimento S6 na inativação do canal de sódio, que realizaram mutação na Phe1764 e Val1774. O estudo de Yarov-Yarovsky et al (2001) por sua vez realizou mutações em aminoácidos na área de domínio IIIS6, encontrando uma redução para inativar o canal de sódio.

Os estudos realizados em sua grande maioria elucidam o mecanismo de ação dos anestésicos locais ao nível de canais de sódio, ressaltando a importância da seqüência dos aminoácidos como sítios específicos de ação para os anestésicos locais, através de interações hidrofóbicas (LOURO et al, 1998; MCPHEE et al, 1995; TSANG et al, 2005; YAROV-YAROVY et al, 2001). Essas interações se dariam entre os substituintes alquila da amina e/ou do anel aromático com os aminoácidos do canal de sódio (MCPHEE et al, 1995). Quanto mais volumoso o substituinte alquila, mais estáveis as interações.

ções físicas com os aminoácidos do canal de sódio, e mais prolongada a anestesia.

Dessa forma, a partir da revisão da literatura realizada, tem-se indicação que as interações moleculares acontecem entre o anestésico local e a membrana do axônio. As mesmas envolvem a amina protonada dos anestésicos locais com grupamentos negativamente carregados nos lipídeos ou aminoácidos que formam o canal de sódio, o que permite interações dipolo-dipolo modificando a fluidez da membrana (FRACETO & PAULA, 2004; LOURO et al, 1998). As interações se dão ainda entre os grupamentos alquila dos anestésicos locais com os aminoácidos no canal de sódio através de pontes de hidrogênio ou por forças de Van Der Waals. Possivelmente, tanto o volume dos grupamentos alquila, quanto os aminoácidos sítio receptores dessa interação podem estar envolvidos com uma anestesia prolongada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAIA, C.; GLAASERB, I.W.; SAWANOBORIA, T.; SUNAMI, A. Involvement of local anesthetic binding sites on IVS6 of sodium channels in fast and slow inactivation. *Neuroscience Letters*. v.337, p.41-45, 2003.
- CATTERALL, W.; MACKIE, K. Anestésicos locais. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. Goodman & Gilman *As bases farmacológicas da terapêutica*. 10ed, Rio de Janeiro, McGraw Hill, 2003. p.279- 292.
- FRACETO, L.F.; SPISNIC, A.; SCHREIERE, S.; PAULA, E. Differential effects of uncharged aminoamide local anesthetics on phospholipid bilayers, as monitored by ¹H-NMR measurements. *Biophysical Chemistry*. v.115, p.11 – 18, 2005.
- FRACETO, L.F.; PAULA, E. Anestésicos locais: interações com membranas de eitrócitos de sangue humano estudado por ressonância magnética nuclear de ¹H e ³¹P. *Química Nova*. v.27, p.66-71, 2004.
- FUJIYOSHI, Y.; MITSUOKA, K.; GROOT, B.L.; PHILIPPSEN, A.; GRUBMÜLLER, H.; AGRE, P.; ENGEL, A. Structure and function of water channels. *Current Opinion in Structural Biology*. v.12, p.509-515, 2002.
- LENNINGER, A.L.; NELSON, D.; COX, M.M. *Princípios da Bioquímica*. 2 ed. São Paulo: Sarvier. 1995, 839p.
- LOURO, S.R.W.; ANTENEODO, C.; WAJNBERG, E. Carboxyl groups at the membrane interface as molecular targets for local anesthetics. *Biophysical Chemistry*. v.74, p.35-43, 1998.
- MCPHEE, J.C.; RAGSDALE, D.S.; SCHEVER, T.; CATTERALL, W.A. A critical role for transmembrane segment IV6 of the sodium channel α subunit in fast inactivation, *Journal of Biological Chemistry* . v.270, p.12025-12034, 1995.
- OGATA, N.; OHISHI, Y. Molecular diversity of structure and function of the voltage-gated Na⁺channels. *Jpn J. Pharmacol*. v.88, p.385-377, 2002.
- ROCHA, A.P.C.; LEMONICA, L.; BARROS, G.A.M. Uso de medicações por via subaracnóidea no Tratamento da dor crônica. *Rev. Bras. de Anestesiologia*. v.52, p.628-643, 2002.
- TSANG, S.Y.; TSUSHIMA, R.G.; TOMASELLI, G.F.; LI, R.A.; BACKX, P.H. A Multifunctional Aromatic Residue in the External Pore Vestibule of Na Channels Contributes to the Local Anesthetic Receptor. *Molecular Pharmacology*. v.67, p.424-434, 2005.
- TSUCHIYA, H.; MIZOGAMI, M.; TAKAKURA, K. Reversed-phase liquid chromatographic retention and membrane activity relationships of local anesthetics. *Journal of chromatography A*. v.1073, p.303-308, 2005.
- WRIGHT, S.N.; WANG, S.; WANG, G.K. Lysine Point Mutations in Na⁺ Channel D4-S6 Reduce Inactivated Channel Block by Local Anesthetics. *Molecular Pharmacology*. v.54, p.733-739, 1998.
- YAROV-YAROVY, V.; BROWN, J.; SHARP, E.M.; CLARE, J.J.; SCHEUER, T.; CATTERALL, W.A.** Molecular Determinants of Voltage-dependent Gating and Binding of Pore-blocking Drugs in Transmembrane Segment IIIS6 of the Na⁺ Channel α Subunit. *J. Biol. Chem*. v.276, p.20-27, 2001.
- YAROV-YAROVY, V.; MCPHEE, J.C.; IDSVOOG, D.; PATE, C.; SCHEUER, T.; CATTERALL, W.A.** Role of Amino Acid Residues in Transmembrane Segments IS6 and IIS6 of the Na⁺ Channel α Subunit in Voltage-dependent Gating and Drug Block. *J. Biol. Chem*. v.277, p.35393-35401, 2002.