

Anestésicos Locais e Opióides Encapsulados em Lipossoma: Um Avanço Farmacotécnico em Progresso*

Maria dos Prazeres Barbalho Simonetti, TSA¹, Márcia Pavan de Andrade, TSA²

Simonetti MPB, Andrade MP - Liposome - coated local anesthetics and opioids: a phamacotechnical progress in development

KEY WORDS: ANESTHETICS: Local; HIPNOANALGESICS: opioids: PHARMACOTECHNIC: liposome - coated

O controle da dor aguda (analgesia pós-operatória) e o alívio da dor crônica (dor do câncer e dor crônica não maligna) têm se firmado nesta década como atribuições da anesthesiologia.

Deve-se à sabedoria daqueles que consolidaram a anesthesiologia moderna^{1,2} a rutura do anacronismo que confinava o anesthesiologista no espaço restrito das salas cirúrgicas. Assim, reconquistando o território de sua atuação, o anesthesiologista retoma a atividade a que sempre esteve apto, ou seja, exercer o domínio sobre a dor em toda sua plenitude.

Com o reconhecimento da impropriedade do método de prescrição de analgésicos por via intramuscular (*se necessário*) no pós-operatório, mudaram-se condutas e posturas no controle da analgesia pós-operatória.

A via intramuscular, na maioria das vezes, não propiciava níveis plasmáticos com-

patíveis com as necessidades analgésicas, causando sofrimento ao paciente. Em consequência disso, surgiram novas abordagens para o controle da dor pós-operatória, com esquemas mais racionais e sofisticados, por via venosa, que correspondem mais efetivamente à farmacocinética das drogas empregadas.

Para tanto contribuiu o desenvolvimento tecnológico de bombas de infusão computadorizadas, que culminaram na técnica de analgesia controlada pelo paciente (*patient controlled analgesia* - PCA). Com formulações farmacêuticas de analgésicos de liberação lenta foi também desenvolvido o sistema terapêutico transdérmico (*transdermal therapeutical system* - TTS). Os bloqueios regionais também progrediram através de técnicas novas (bloqueio interpleural, por exemplo) e anestésicos locais e opióides mais potentes, utilizados isoladamente ou em associação.

Recentemente, a antiga técnica de encapsulamento de medicamentos em lipossoma está sendo ensaiada com anestésicos locais e opióides, tendo como objetivo maior o prolongamento de seus efeitos farmacológicos.

Analgesia Controlada pelo Paciente (PCA)

A grande vantagem deste sofisticado método de analgesia deve-se ao fato de permitir que o próprio paciente se supra com a dose efetiva de sua medicação, evitando as deficiências das prescrições de demanda. Se de um lado o método é eficaz quanto ao alívio da dor, do

* Trabalho realizado no Laboratório de Anestésicos Locais do Departamento de Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

1 Professora Assistente Doutora

2 Médica Assistente do Grupo de Dor da Disciplina de Anesthesiologia do HCFMUSP

Correspondência para Maria P B Simonetti
Alameda Franca, 1436 Aptº 161
01422-001 São Paulo - SP

Apresentado em 30 de maio de 1995

Aceito para publicação em 08 de agosto de 1995

© 1996, Sociedade Brasileira de Anesthesiologia

outro impõe limitações de ordem econômica. As bombas de infusão são sofisticadas e caras, o que requer sua supervisão por pessoal treinado³. As desvantagens desta técnica incluem o mau funcionamento do equipamento e erros humanos⁴.

Sistema Terapêutico Transdérmico (TTS)

O tratamento da dor com esta formulação do fentanil propicia liberação lenta e vem sendo utilizada na analgesia pós-operatória. Esta formulação consta basicamente de um adesivo para a pele, contendo fentanil na forma de gel. Este reservatório de fentanil é selado, porém dispõe de microporos que permitem a passagem da substância para a derme, estando a difusão da droga garantida através do meio lipídico intracelular (Fig 1).

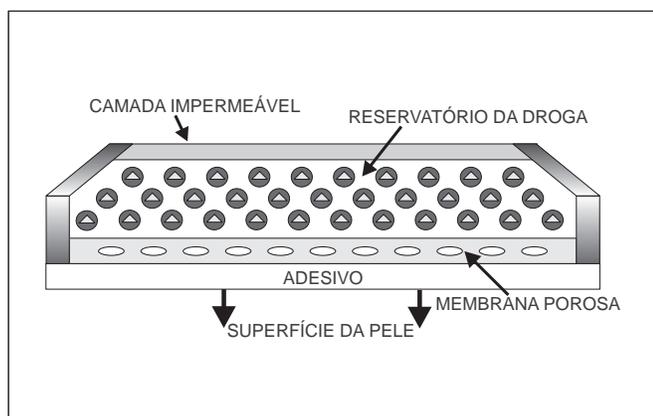


Fig 1 - Sistema Terapêutico Transdérmico - adesivo de pele com conteúdo de fentanil na forma gel. O reservatório é selado embora contenha microporos que permitem a passagem da droga para a derme, através do meio lipídico.

Os adesivos variam quanto à dosagem do fentanil contido no reservatório, permitindo taxas de infusão de 25, 50, 75 e 100 $\mu\text{g}/\text{hora}$ em 3 dias.

Embora esta preparação farmacêutica seja uma técnica de analgesia eficaz apresenta algumas desvantagens, como a relacionada à própria derme que funciona como um reservatório para o fentanil absorvido, permitindo sua liberação mesmo depois que o adesivo tenha

sido retirado⁵. Apresenta ainda o inconveniente de induzir náusea, vômito e depressão respiratória tardia⁶. Todavia, a maior desvantagem desta técnica diz respeito à farmacocinética do fentanil. Sua grande variabilidade individual prejudica o fornecimento da dose analgésica apropriada para a intensidade da dor do paciente, resultando num grande óbice para a analgesia pós-operatória⁷. Acrescentem-se a este inconveniente os casos de morte ocorridos nas salas de recuperação e que foram associados ao uso do fentanil nesta formulação, reforçando sua contra-indicação para a analgesia pós-operatória. Nesse sentido, existe uma advertência do fabricante, a Janssen Pharmaceutica, Titusville, NJ, USA, feita em Janeiro de 1994⁸. No entanto, o TTS tem sido de grande utilidade para o tratamento da dor do câncer⁹.

Anestesia Regional na Terapêutica Antinociceptiva

A anestesia regional vem ocupando um lugar de destaque na analgesia pós-operatória, sendo a técnica de maior indicação, principalmente nas cirurgias de grande porte. O bloqueio da transmissão nociceptiva pelos anestésicos locais e opióides, através das técnicas regionais, evoluiu para a *analgesia balanceada*¹⁰. Essa modalidade de manuseio da dor pós-operatória está consagrada, a despeito das desvantagens, como as inerentes à própria técnica que requer destreza em sua execução, e suas complicações já conhecidas. Porém são situações contornáveis pelo anesthesiologista.

Todavia, o grande impasse na analgesia pós-operatória por esta técnica é a duração de ação limitada dos anestésicos locais, que exige injeções intermitentes ou infusão contínua, através de catéteres e infusores. A consequência disso é o desenvolvimento de tolerância aguda aos anestésicos locais devida ao fenômeno da taquifilaxia.

Os mecanismos responsáveis por esta tolerância aguda ainda permanecem desconhecidos. Foram desenvolvidas hipóteses far-

macodinâmicas e farmacocinéticas¹¹, sem que se chegasse a um consenso, parecendo ser a taquifilaxia resultante de vários fatores. Este fenômeno é de aparecimento irregular, estando relacionado, por exemplo, com a idade (o idoso é de alguma maneira refratário à taquifilaxia)⁷ e com o regime de aplicação do anestésico local (injeções intermitentes provocam maior incidência de taquifilaxia que infusões contínuas)¹². Em contrapartida, um estudo clínico demonstrou que a analgesia balanceada, isto é, a associação de opióides e anestésicos locais, evita o desenvolvimento de taquifilaxia¹³.

Enquanto este fenômeno continua a se constituir num entrave ao controle da dor pós-operatória e alívio da dor crônica, um grande avanço farmacotécnico desponta para a anestesia regional, atendendo a busca incessante do prolongamento do efeito de anestésicos locais e opióides: a administração dessas drogas sob a forma de lipossomas.

Encapsulamento de Anestésicos Locais e Opióides em Lecitina ou Lipossoma

A primeira referência sobre fármacos encapsulados em lipossoma e relacionados à anestesia regional foi feita por Covino¹⁴ e posteriormente divulgada em nosso meio por Simonetti, em 1986¹⁵. Tratava-se do encapsulamento do metoxiflurano em lipossoma.

Algumas microgotas deste anestésico foram submetidas à esta formulação e injetadas na cauda de rato, verificando-se analgesia. Essa nova formulação foi comparada com a lidocaína e a bupivacaína (em suas formulações originais, isto é, em solução), no mesmo modelo experimental. Os resultados mostraram-se surpreendentes quanto à duração de ação do metoxiflurano, que promoveu analgesia de duração superior a 24 horas e portanto, extraordinariamente maior que a da lidocaína e da bupivacaína. Esses mesmos pesquisadores expandiram a investigação para a pele humana^{16,17}.

Subseqüentemente a esta descoberta, anestésicos locais e opióides vêm sendo submetidos a esta formulação, objetivando o prolongamento do efeito analgésico que o encapsulamento em lipossoma propicia.

Essa inovação na apresentação destes agentes tem suscitado interesse crescente, pela inestimável contribuição que agentes de duração de ação ultra-longa trarão às técnicas de analgesia, de anestesia cirúrgica e do tratamento da dor aguda e crônica.

Bases Farmacocinéticas para o Encapsulamento de Drogas em Lecitina ou Lipossoma

O encapsulamento ou incorporação de substâncias biologicamente ativas em lipossoma é obtido pelo aprisionamento destas substâncias em fosfolípides. Os lipossomas são formados quando os fosfolípides são dispersos em meio aquoso, resultando em estrutura semelhante a uma vesícula. O fosfolípide utilizado é a lecitina ou fosfatidilcolina, produto da esterificação do ácido fosfatídico pelo grupo alcoólico da colina. A molécula do fosfolípide contém um grupo polar hidrofílico, representado pela colina, aderido à uma cauda lipídica hidrofóbica¹⁸ (Fig 2).

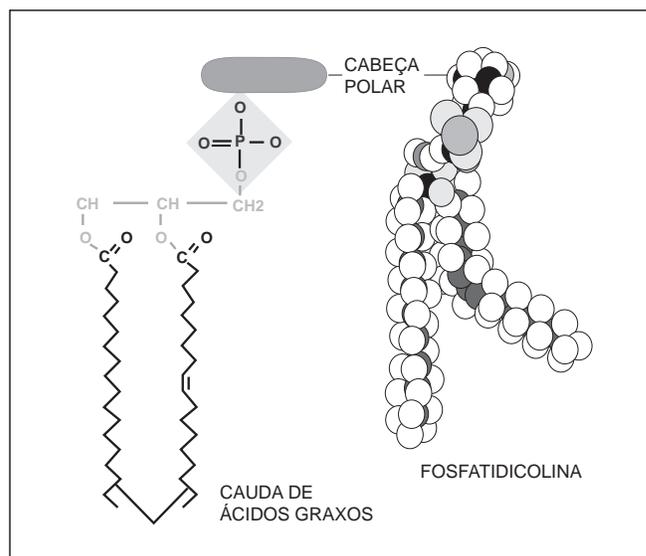


Fig 2 - Fosfatidilcolina ou lecitina

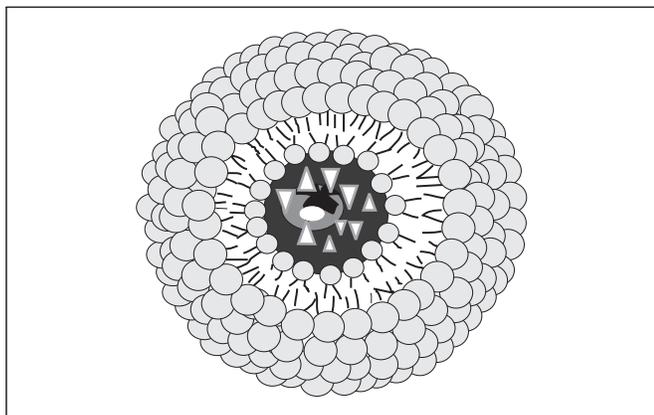


Fig 3 - Estrutura do lipossoma: camadas bimoleculares de lecitina, circundadas por camadas aquosas.

As menores vesículas que os fosfolípidos podem formar são lipossomas com diâmetro de 25 nm, consistindo de um centro aquoso circundado por uma camada bimolecular de fosfolípidos. Já os lipossomas maiores possuem camadas aquosas concêntricas que se alternam com a camada bimolecular do fosfolípido formando uma estrutura multilamelada (assemelhando-se a uma cebola), cujo diâmetro atinge mais de 1 μm (Fig 3)

Para o aprisionamento do fármaco no lipossoma, submetem-se, em meio aquoso, o fármaco, o lípido e o emulsificador ao processo de sonicação (com o equipamento chamado sonificador ou disruptor celular que emite ondas ultrassônicas), obtendo-se finas películas - os lipossomas. Os lipossomas assim formados aprisionam a droga e a água dentro de sua cavidade¹⁸.

De conformidade com as propriedades físico-químicas da substância, seu encapsulamento pelo lipossoma far-se-á nas camadas aquosas ou no próprio fosfolípido. Se o fármaco for lipossolúvel será facilmente aprisionado na camada bimolecular do lipossoma⁴ (Fig 4).

O aprisionamento da substância dentro das camadas do lipossoma resulta em sua liberação lenta e continuada. Assim sendo, o lipossoma funciona como um carregador para o fármaco atingir seu local de ação.

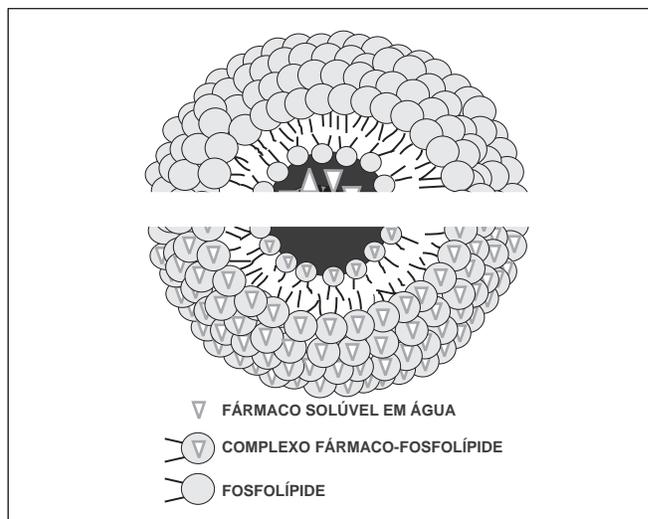


Fig 4 - Lipossoma visto em 2 diferentes representações. Na parte superior, mostrando o fármaco incorporado centralmente; Na porção inferior, a incorporação do fármaco no próprio fosfolípido.

Lipossoma: Destino e Efeitos Sistêmicos

Quando injetados por via venosa, os lipossomas são rapidamente removidos da corrente sanguínea, principalmente pelas células fagocitárias do sistema retículo-endotelial do baço, pelas células de Kupffer do fígado e também pelos hepatócitos. Dentro dessas células os lipossomas fundem-se com os lisossomas e a estrutura do fosfolípido é degradada, permitindo a liberação do fármaco que foi incorporado em seu interior.

Quando administrado por via intramuscular, o destino dos lipossomas varia na dependência de seu diâmetro. Os menores passam para a corrente sanguínea; os de tamanho médio dirigem-se para o sistema linfático, enquanto os maiores permanecem localizados e liberam lentamente seus conteúdos¹⁸.

Têm-se atribuído aos lipossomas o desenvolvimento de resposta imune. Na preparação desta formulação, a escolha de lecitina do ovo¹⁹ e do dipalmitoil fosfatidilcolina, de ocorrência natural nas células de mamíferos²⁰, parece ter evitado efeitos colaterais de sensibilização.

Por outro lado, o perigo potencial de embolização tem sido objeto de controvérsias.

Grant e col⁸ atribuem este efeito colateral ao diâmetro do lipossoma. A morfina encapsulada em lipossoma, com tamanho < 1 µm foi injetada intraperitonealmente em ratos, não provocando qualquer efeito colateral⁸. Esse fato decorre do menor tamanho dos lipossomas (< 1 µm) em relação ao diâmetro dos capilares pulmonares (5 a 15 µ). Como subsídio a este dado laboratorial, existe a experiência clínica com o propofol, que veiculado em óleo de soja (100 mg/ml) e lecitina de ovo (12 mg/ml) e injetado em *bolus*, não promove oclusão dos capilares pulmonares. O lipossoma pode ainda ativar ou deprimir o sistema fagocitário mononuclear⁸.

Tem sido relatado o aparecimento de alodinia com o uso de lipossoma. Wallace e col²¹ observaram alodínia em ratos com injeção intratecal com três diferentes preparações puras de fosfolípides (dipalmitoilfosfatidilcolina, dipalmitoilfosfatidilcolina associado ao dipalmitoilfosfatidilglicerol e dipalmitoilfosfatidilcolina associado ao colesterol). Os animais exibiram comportamento doloroso evocado por toque suave, manifestando vocalização e esforço no sentido de evitar o estímulo tátil. Quando o alfentanil foi encapsulado nessas três preparações, esse efeito colateral não se manifestou, pressupondo-se que o alfentanil protege os animais contra o aparecimento da alodínia. Por outro lado, a lisofosfatidilcolina (um produto resultante da lipase sobre a fosfatidilcolina) está implicada na desmielinização reversível devendo afetar o

nervo²¹. Aguarda-se, portanto, que estudos futuros definam os mecanismos desse efeito e sua toxicidade potencial (Fig 5).

Encapsulamento de Anestésicos Locais em Lipossoma

Depois que Kirkpatrick e Haynes^{16,17}, obtiveram a incorporação do metoxifluorano em lipossoma, as pesquisas se encaminharam para a obtenção de anestésicos locais nessa formulação, objetivando prolongar a duração de ação destes agentes.

Os anestésicos locais caracterizam-se por serem compostos anfipáticos, isto é, contêm em sua molécula um grupamento que confere lipossolubilidade e outro que confere hidrossolubilidade. Devido a estas características, as moléculas dos anestésicos locais, ao se submeterem ao processo de encapsulamento, migram para a interface lípide-água do lipossoma formando estruturas relativamente instáveis. A relativa instabilidade dos lipossomas deve-se às forças de Van der Waals, responsáveis por agregação e sedimentação da formulação. Para assegurar a estabilidade da formulação, os fosfolípides estão sendo associados ao colesterol, que afeta sua fluidez, tornando-a mais rígida²¹.

Os ensaios com anestésicos locais lipossômicos não somente demonstram a viabilidade farmacotécnica, como, principalmente, confirmaram a liberação lenta e prolongada dos agentes que nele foram incorporados. Nesse sentido pairava uma dúvida sobre sua possível neurotoxicidade. Quando a tetracaína encapsulada foi injetada na cauda do rato obteve-se 43 horas de analgesia, e com a aplicação direta no nervo ciático não foram observadas lesões teciduais²².

Num outro estudo direcionado à investigação de neurotoxicidade²³, a tetracaína lipossômica a 10% foi aplicada intratecalmente em ratos e um segmento da medula espinhal, de C1 a L5, incluindo a porção proximal da cauda eqüina, foi submetida a estudos histológicos.



Fig 5 - Histograma da porcentagem dos animais que desenvolveram alodinia depois da administração intratecal de salina ou de uma das 3 preparações de lipossoma. Wallace et al²¹.

Não foram encontrados sinais de lesão tecidual, como desmielinização ou processos inflamatórios, na substância branca medular, ou na raiz nervosa. A bupivacaína, nessa mesma formulação, foi investigada no mesmo modelo experimental, não apresentando igualmente sinais de neurotoxicidade²⁴.

A lidocaína, também encapsulada, levou a uma duração de ação prolongada quando usada por via peridural em cães²⁵. Sob essa forma a lidocaína desenvolveu um bloqueio expressivamente mais prolongado (170 minutos) comparativamente à lidocaína em solução (61 minutos de duração).

Bupivacaína Lipossômica e Toxicidade Sistêmica

Os lipossomas, sendo carregadores que liberam fármacos por eles veiculados, levam a uma liberação lenta e prolongada. Em razão desta propriedade pode-se afirmar que os níveis plasmáticos estarão diminuídos e, por consequência, a toxicidade sistêmica.

Para esta confirmação, Boogaerts e col¹⁹ testaram a toxicidade induzida agudamente pela bupivacaína, observando as seguintes variáveis: convulsão, taquicardia ventricular e assistolia. A bupivacaína em solução a 0,25% foi injetada na veia auricular de coelhos e comparada com a bupivacaína lipossômica a 0,25%. Os resultados mostraram marcada diferença quanto à dose, de tal ordem que foi necessária uma dose expressivamente maior de bupivacaína encapsulada para o aparecimento daquelas variáveis. Os autores atribuíram a estes resultados a maior concentração da bupivacaína encapsulada no fígado e no baço, e acumulação reduzida no coração e no cérebro. Deve-se considerar ainda que o lipossoma multilaminar não atravessa a barreira hemato-encefálica.

Por esse motivo, o encapsulamento assegura maior margem de segurança da bupivacaína, em termos de toxicidade sistêmica.

Diante dessas evidências, pode-se in-

ferir que uma dose de anestésico local na formulação convencional apresenta maior toxicidade, o que não ocorre se liberada lenta e continuamente sob a forma encapsulada, não apresentando efeitos sistêmicos ou lesão tecidual.

Bupivacaína Lipossômica na Analgesia Pós-Operatória em Humanos

Esta nova forma farmacêutica vem progredindo da fase pré-clínica de experimentação em que se encontrava para a utilização na espécie humana. Na Europa, os ensaios em pacientes cirúrgicos estão em curso com os primeiros estudos de Boogaerts e col²⁶. A bupivacaína lipossômica a 0,5% foi comparada à bupivacaína em solução a 0,5%, acrescida de 1:200.000 de epinefrina, injetadas por via peridural em pacientes para analgesia pós-operatória de cirurgia de grande porte (abdominais, vasculares, urológicas, torácicas e ortopédicas). Neste estudo aberto e não randomizados foram arrolados 26 pacientes que foram divididos em dois grupos: grupo bupivacaína lipossômica (n = 14) e grupo bupivacaína convencional (n = 12) e avaliadas as seguintes variáveis: latência, qualidade da anestesia, bloqueio motor e bloqueio simpático. Os resultados deste estudo confirmaram a supremacia da bupivacaína lipossômica em relação à bupivacaína em solução, em termos de duração de analgesia (6,25 horas e 3,2 horas de analgesia, respectivamente). A instalação da analgesia ocorreu em 15 minutos com ambas as formulações e não foram observados bloqueio motor ou efeitos adversos (neurotoxicidade ou cardiotoxicidade).

Encapsulamento de Opióides em Lipossoma

Os opióides, assim como os anestésicos locais, são os pilares no manuseio farmacológico da dor. Ambos são limitados em sua duração de ação, implicando a necessidade de

suplementação da dose, seja pelas técnicas de administração intravenosas ou regionais. Além de conferirem absorção rápida, estas drogas levam a repercussões orgânicas indesejáveis. Em vista disso, os lipossomas, conferindo uma absorção lenta e continuada, estão sendo ensaiados para os opióides.

Bernards e col²⁰ estudaram a duração do efeito e a farmacocinética do alfentanil, encapsulado em lipossomas, administrado em ratos por via intratecal. O alfentanil lipossômico foi superior ao alfentanil aquoso, particularmente quanto à farmacocinética. Os níveis plasmáticos que traduzem indiretamente a depuração do alfentanil no fluxo sanguíneo cerebral, estavam reduzidos. Provavelmente este efeito deve minimizar os efeitos colaterais (principalmente sedação e depressão respiratória) nos receptores supraespinhais, se a liberação for controlada pelos lipossomas. Com o alfentanil lipossômico injetado intratecalmente em ratos, Wallace e col²¹ obtiveram um retardo no pico plasmático com conseqüente diminuição de sua redistribuição rostral, avaliada pelo aparecimento de catalepsia e perda do reflexo corneal. Devido a sua duração de ação relativamente curta, os opióides da família 4-anilopiperidina (fentanil, alfentanil e sufentanil) requerem doses altas e repetidas, desvantagens estas que seriam contornadas com esta nova formulação.

A morfina, sob a forma encapsulada em lipossoma, foi também investigada quanto à

nalgesia e à toxicidade, pela injeção intraperitoneal em camundongos. A analgesia foi pesquisada pelo método algésimétrico (*tail flick*)⁸. Os resultados obtidos comprovaram a supremacia da morfina lipossômica em termos de duração da analgesia, que foi de 27 horas, enquanto que a morfina em solução levou a uma analgesia de 4 horas (Fig 6).

Para o estudo da toxicidade, os mesmos autores⁸ determinaram a DL50 (130 mg.kg⁻¹) da morfina aquosa injetada intraperitonealmente em camundongos. Entretanto, não foi possível obter-se a DL50 quando a morfina lipossômica foi experimentada. Com esta, chegou-se a atingir a dose de 1650 mg.kg⁻¹ (a quantidade máxima contida no lipossoma) sem que ocorresse a morte dos animais. Portanto, com uma dose 12,5 vezes superior à DL50 da morfina aquosa, todos os camundongos sobreviveram.

Encapsulamento de Anestésicos Gerais Voláteis

O uso desta formulação, (encapsulamento de metoxiflurano), vem se expandindo para anestésicos gerais halogenados, visando sua aplicabilidade na anestesia geral.

Na impossibilidade de se utilizarem agentes voláteis por via venosa (pois estes são pouco miscíveis no sangue, podendo provocar lesão pulmonar, com edema e hemorragia), os pesquisadores estão tentando, pelo método lipossômico, obter anestesia geral, com agentes que na corrente sanguínea sejam liberados de forma lenta e continuada. Para tanto, microgotas de metoxiflurano, halotano e isoflurano estão sendo incorporadas aos lipossomas. A favor desta tentativa existe a vantagem do lipossoma não atravessar a barreira hémato-encefálica²⁷.

Concluindo, pode-se antever a importância desse avanço farmacotécnico tanto para a medicina em geral, como para a anestesiologia, em particular. Ressalte-se que antibióticos lipossômicos (gentamicina e nistatina) já estão sendo submetidos à ensaios clínicos. Enquanto

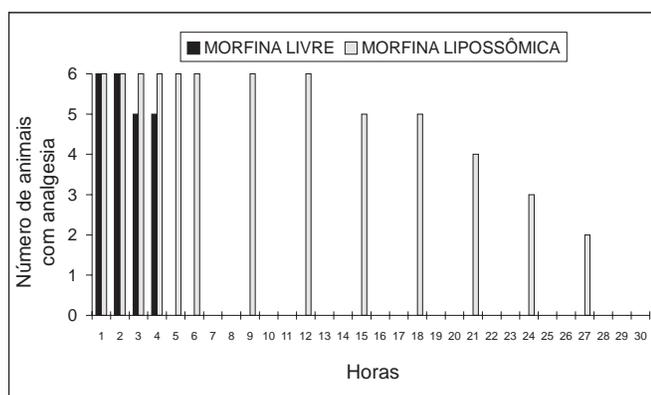


Fig 6 - Duração da analgesia em camundongos, após a injeção intraperitoneal de morfina aquosa e morfina lipossômica. Grant et al⁸

isso, a anfotericina (Ambisome R) encontra-se disponível para uso clínico na Europa²⁷. Espera-se que o uso da forma encapsulada de anestésicos locais e opióides em lecitina se torne uma realidade, para que as técnicas de bloqueio assumam a posição que lhes cabe na terapêutica antinociceptiva.

Com certeza, somente através do *aprisionamento* de anestésicos locais e opióides possa o anestesiológico se *libertar* das amarras impostas pela limitação de efeito destes agentes, conseguindo então exercer em sua plenitude o domínio sobre a dor.

Simonetti MPB, Andrade MP - Anestésicos Locais e Opióides Encapsulados em Lipossoma: Um Avanço Farmacotécnico em Progresso

UNITERMOS: ANESTÉSICOS: Local; FARMACOTÉCNICA: lipossoma encapsulado; HIPNOANALGÉSICOS: opióides

REFERÊNCIAS

- Bonica JJ - Importance of effective pain control. *Acta Anaesthesiol Scand*, 1987; (Supp):1-16.
- Ferrante MF, VadeBoncouer TR - To the memory of Benjamin G Covino, PhD, Md. Em: Postoperative pain management, New York, Churchill Livingstone, 1993.
- White PF - Mishaps with patient-controlled analgesia. *Anesthesiology*, 1987; 66:8-83.
- Fleming BM, Coombs DW - A survey of complications documented in a quality-control analysis of patient-controlled analgesia in the postoperative patient. *J Pain Symptom Manage*, 1992; 7:463-469.
- Sandler AN - New techniques of opioid administration for the control of acute pain. *Anesthesiol Clin North Am*, 1992;10:271-275.
- Caplan RA, Ready LB, Oden RV et al - Transdermal fentanyl for postoperative pain management. A double blind placebo study. *JAMA*, 1989; 261:1036-1041.
- Ferrante MF - Opioids In - Postoperative pain management New York, Churchill Livingstone, 1993; 145-209.
- Grant GJ, Vermeulen K et al - Prolonged analgesia and decreased toxicity with liposomal morphine in mouse. *Anesth Analg*, 1994;79:706-709.
- Portnoy RK, Southam MA, Gupta, et al - Transdermal fentanyl for cancer pain. *Anesthesiology*, 1993;78:36-43.
- Dahl JB, Rosenberg J, Dirkes WE et al - Prevention of postoperative pain by balanced analgesia. *Br J Anaesth*, 1990; 64:518-523.
- Tucker GT, Mather LE - Pharmacology of local anaesthetic agents: pharmacokinetics of local anaesthetic agents. *Br J Anaesth*, 1975; (Supp); 47:213-228.
- Mogensen T, Hjortso N-C, Bigler D et al - Unpredictability of regression of analgesia during continuous postoperative extradural infusion of bupivacaine. *Br J Anaesth*, 1988; 60:515-521.
- Lee A, Simpson D, Whitfield A, et al - Postoperative analgesia by continuous extradural infusion of bupivacaine and diamorphine. *Br J Anaesth*, 1988;60:845-850.
- Covino BG - One hundred years plus two of regional anesthesia. *Labat Lecture*, 1986. 11th Annual Scientific Meeting of ASRA. San Antonio, Texas, USA.
- Simonetti MPB - Cem anos mais dois da anestesia regional. *Rev Bras Anesthesiol (Cartas ao Editor)*, 1986; 36:339-344-349.
- Kirkpatrick AF, Lavalley-Gray M, Haynes DH - Long duration local anesthetic with lecithin-coated microdroplets of methoxyflurane: studies with rat skin. *Reg Anesth*, 1991;16:164-172.
- Haynes DH, Kirkpatrick AF - Long duration local anesthetic with lecithin-coated microdroplets of methoxyflurane; studies with human skin. *Reg Anesth*, 1991;16:173-180.
- Bowman WC, Rand MJ - Absorption, distribution, excretion and metabolism of drugs. *Bio-pharmaceutics and pharmacokinetics*: In: Textbook of Pharmacology. Melbourne, Blackwell Scientific Publication, 1980;40-1-40-58.
- Boogaerts I, Declercq A, Lafont ND et al - Toxicity of bupivacaine encapsulated into liposomes and injected intravenously: comparison with plain solutions. *Anesth Analg*, 1993;76:553-572.
- Bernards CM, Luger TJ, Malberg AB et al - Liposome encapsulation prolongs alfentanil spinal analgesia and alters systemic redistribution in the rat. *Anesthesiology*, 1992;77:529-532.
- Wallace MS, Yanez AM, Ho RJY et al - Antinociception and side effects of liposome-encapsulated alfentanil after spinal delivery in rats. *Anesth Analg*, 1994;79:778-787.
- Boedeker BH, Kline MD, Burnham KA et al - Peripheral neurotoxicity of lecithin-coated tetracaine micro-crystals. *Anesthesiology*, 1991;79:A825.
- Burnham KA, Boedeker BH, Kline MD et al - Spinal cord toxicity of lecithin-coated tetracaine micro-crystals in the rat. *Reg Anesth*, 1994; (Supp):18;45.
- Kusma PJ, Kline MD, Boedeker BH et al - Microcrystalline bupivacaine coated with lecithin produces ultra long duration local anesthetic in the rat. *Anesthesiology*, 1994; (Supp): A1034.
- Machino T, Uchida I, Pak M et al - Prolongation of canine epidural anesthesia by liposome encapsulation of lidocaine. *Anesth Analg*, 1992;74:827-834.
- Boogaerts JG, Lafont ND, Declercq AG et al - Epidural administration of liposome-associated bupivacaine for the management of postsurgical pain: a first study. *J Clin Anesth*, 1994;6:315-320.
- Gregoriadis G, Florence AT - Liposome in drug delivery: clinical, diagnostic and ophthalmic potential. *Drugs*, 1993;45:15-18.