



REVISTA BRASILEIRA DE ANESTESIOLOGIA

Publicación Oficial de la Sociedade Brasileira de Anestesiologia
www.sba.com.br



ARTÍCULO CIENTÍFICO

Efectos neurotóxicos de la levobupivacaína y el fentanilo sobre la médula espinal de ratones

Yesim Cokay Abut^{a,*}, Asli Zengin Turkmen^b, Ahmet Midi^c, Burak Eren^d,
Nese Yener^c y Asiye Nurten^b

^a Departamento de Anestesiología, Kanuni Sultan Suleyman Education and Training Hospital, Estambul, Turquía

^b Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Yeni Yuzyil University, Estambul, Turquía

^c Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Maltepe University, Estambul, Turquía

^d Departamento de Neurocirugía, Bakirkoy Sadi Konuk Education and Training Hospital, Estambul, Turquía

Recibido el 20 de enero de 2013; aceptado el 15 de julio de 2013

Disponible en Internet el 4 de noviembre de 2014

PALABRAS CLAVE

Levobupivacaína;
Neurotoxicidad;
Fentanilo

Resumen

Justificación: El objetivo de este estudio fue comparar los efectos neurotóxicos de la administración por vía intratecal de la levobupivacaína y el fentanilo y su mezcla sobre la médula espinal de ratones.

Métodos: El experimento abarcó 4 grupos que recibieron medicamento y un grupo control. Los ratones recibieron inyección de solución salina (15 µL) o fentanilo (0,0005 µg/15µL), levobupivacaína al 0,25% (15 µL) y fentanilo (0,0005 µg + levobupivacaína al 0,25%/15 µL) por vía intratecal durante 4 días. Se empleó el test de placa caliente para evaluar la función neurológica tras cada inyección en los minutos 5, 30 y 60. Cinco días después de la última inyección lumbar, se obtuvieron las secciones de la médula espinal entre los niveles vertebrales T5 y T6 para el análisis histológico. Usamos una puntuación basándonos en la evaluación subjetiva del número de neuronas eosinofílicas (neuronas rojas), lo que significa degeneración neuronal irreversible. Esas neuronas reflejan el número aproximado de neuronas en degeneración presentes en las áreas neuroanatómicas afectadas de la siguiente forma: 1 = ninguna; 2 = 1-20%; 3 = 21-40%; 4 = 41-60% y 5 = 61-100% neuronas muertas. Para cada ratón se calculó una puntuación neuropatológica global a través de la suma de las puntuaciones patológicas de todas las áreas examinadas de la médula espinal.

Resultados: En los resultados del test de placa caliente, comparando el grupo control, la latencia analgésica fue estadísticamente prolongada para los 4 grupos.

En la inversión neuropatológica, los grupos fentanilo y fentanilo + levobupivacaína tuvieron una degeneración neuronal en recuentos significativamente más altos que los grupos control y salina.

Conclusiones: Esos resultados nos sugieren que el fentanilo y la levobupivacaína, cuando se administran por vía intratecal en ratones, se comportan de forma similar a la acción

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: yesimabut2000@yahoo.com (Y.C. Abut).

analgésica, pero el fentanilo puede ser neurotóxico para la médula espinal. No hubo degeneración significativa con la levobupivacaína, pero el grupo fentanilo presentó degeneración significativa.

© 2013 Sociedade Brasileira de Anestesiologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS

Levobupivacaine;
Neurotoxicity;
Fentanyl

Neurotoxic effects of levobupivacaine and fentanyl on rat spinal cord

Abstract

Background: The purpose of the study was to compare the neurotoxic effects of intrathecally administered levobupivacaine, fentanyl and their mixture on rat spinal cord.

Methods: In experiment, there were 4 groups with medication and a control group. Rats were injected 15 μ L saline or fentanyl 0.0005 μ g/15 μ L, levobupivacaine 0.25%/15 μ L and fentanyl 0.0005 μ g + levobupivacaine 0.25%/15 μ L intrathecally for four days. Hot plate test was performed to assess neurologic function after each injection at 5th, 30th and 60th min. Five days after last lumbal injection, spinal cord sections between the T5 and T6 vertebral levels were obtained for histologic analysis. A score based on subjective assessment of number of eosinophilic neurons –red neuron– which means irreversible neuronal degeneration. They reflect the approximate number of degenerating neurons present in the affected neuroanatomic areas as follows: 1, none; 2, 1–20%; 3, 21–40%; 4, 41–60%; and 5, 61–100% dead neurons. An overall neuropathologic score was calculated for each rat by summing the pathologic scores for all spinal cord areas examined.

Results: In the results of hot plate test, comparing the control group, analgesic latency statistically prolonged for all 4 groups.

In neuropathologic investment, the fentanyl and fentanyl + levobupivacaine groups have statistically significant high degenerative neuron counts than control and saline groups.

Conclusions: These results suggest that, when administered intrathecally in rats, fentanyl and levobupivacaine behave similar for analgesic action, but fentanyl may be neurotoxic for spinal cord. There was no significant degeneration with levobupivacaine, but fentanyl group has had significant degeneration.

© 2013 Sociedade Brasileira de Anestesiologia. Published by Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

Introducción

El aumento de evidencias de laboratorio¹⁻⁵ muestra que todos los anestésicos locales son potencialmente neurotóxicos y que el daño neurológico posterior al bloqueo neuroaxial puede provenir del efecto directo de medicamentos neurotóxicos. Actualmente, la bupivacaína comercialmente disponible es una mezcla racémica de enantiómeros S (–) y R (+). Su enantiómero aislado, S (–) levobupivacaína, posee un potencial para producir toxicidad en el sistema nervioso central y cardiovascular inferior al del R (+) bupivacaína en animales y seres humanos⁶⁻⁸. En el abordaje clínico, el principal objetivo de la administración de opiáceos por vía espinoaxial es reducir la dosis del anestésico local para maximizar la eficacia y minimizar los efectos colaterales de los medicamentos que actúan en el sistema nervioso central. Los opiáceos lipofílicos, como el fentanilo, son a menudo administrados por vía espinal en adultos. Existen pocos relatos que abordan específicamente la histología, fisiología o evidencia clínica de neurotoxicidad con la administración del fentanilo por vía espinal^{9,10}.

En este estudio investigamos si las repetidas inyecciones en bolo intratecal de fentanilo, de levobupivacaína y de su combinación pueden ser neurotóxicas para la médula espinal en el modelo de ratón.

Métodos

El protocolo se aprobó por el Comité de Ética en Investigación y Uso de Animales de la Universidad de Estambul (número: 26; 25/02/2010). Todos los experimentos fueron realizados en el Departamento de Neurociencias del Instituto de Medicina Experimental, Universidad de Estambul (DETAE). El experimento se llevó a cabo en ratones albinos Wistar, de entre 6 y 8 meses de edad, con un peso de 240-320 g. Los animales fueron divididos en 5 grupos de 8 animales cada uno. El grupo control no recibió ningún medicamento. Después del posicionamiento en decúbito ventral y del rasurado de la piel, bajo condiciones asépticas y sin anestésicos, los siguientes medicamentos fueron inyectados por vía intratecal, una vez al día y en el mismo horario, durante 4 días, en el espacio intervertebral L4-5: solución isotónica (grupo solución salina); 50 μ g/mL de fentanilo (grupo fentanilo); 2,5 mg/mL levobupivacaína (grupo levobupivacaína) o 50 μ g/mL de fentanilo + 2,5 mg/mL de levobupivacaína (grupo fentanilo + levobupivacaína). Las soluciones fueron preparadas con citrato de fentanilo (sin aditivo) (Fentanyl-Janssen, Janssen–Cilag, Bélgica) y clorhidrato de bupivacaína (Chirocaine-Sigma Chemical, Steinheim, Alemania). Las soluciones fueron diluidas con solución salina

Tabla 1 Densidad del LCR, solución salina isotónica, levobupivacaína y fentanilo a 37 °C

	37 °C
LCR	1,000646 ± 0,000086
Solución salina	0,99951 ± 0,00001
Levobupivacaína: 2,5 mg/mL	0,99985 ± 0,00002
Fentanilo	0,99333 ± 0,00002

estéril (Serum Physiologique 0,9%-Galen Deva-Kocaeli, Turquía) (tabla 1). Todas las soluciones fueron preparadas e inyectadas a temperatura ambiente (20-24 °C). Como la implantación crónica de catéter intratecal puede inducir daños en el tejido^{11,12}, preferimos la técnica de inyección intratecal en vez del catéter intratecal. Se observó la función neurológica y los test de placa caliente (TPC) se midieron en los minutos 5, 30 y 60, durante 4 días seguidos después de cada administración del medicamento. La respuesta al TPC se calculó colocando a los ratones sobre una placa metálica a 45 °C. Se registraron el tiempo de latencia entre la colocación del animal sobre la placa y la respuesta comportamental. La respuesta de lamer las patas traseras fue observada en la mayoría de los animales; en los restantes, el tiempo de corte en que el animal responde intentando saltar fue de 15 s. Los test comportamentales fueron realizados por un neurólogo, que desconocía la designación de los grupos. La función motora de los miembros posteriores fue evaluada bilateralmente, clasificando el bloqueo motor como: 0, ninguno; 1, parcialmente bloqueado y 2, completamente bloqueado¹³. El bloqueo motor fue clasificado como ninguno cuando el ratón no presentó debilidad muscular visible de las patas y el caminar era normal; parcialmente bloqueado cuando los miembros se movían pero no sostenían al animal; completamente bloqueado cuando los miembros estaban flácidos, sin resistencia detectable a la extensión de los mismos. Los animales fueron examinados 30 min antes y después de cada inyección. Los animales con problemas de movimiento de la cola o disfunción motora de los miembros posteriores no fueron usados en los experimentos. El siguiente parámetro se midió y se registró durante un período de 2 h: bloqueo sensorial, determinado por la respuesta al test de la pinza hemostática. Después de cada inyección, los ratones se mantuvieron en régimen de 12 h luz/oscuridad y fueron alojados con libre acceso a la comida y al agua.

Evaluación histológica

Después del último examen funcional, los ratones fueron sacrificados con dosis elevadas de pentobarbital (100 mg/kg), administradas por vía intraperitoneal. Un neurocirujano, que desconocía la ubicación de los grupos y los resultados de las mediciones comportamentales, realizó una resección de la médula espinal. Para descubrir la dispersión craneal de los anestésicos locales, las secciones de la médula espinal obtenidas a partir T5-6 fueron usadas para la evaluación cualitativa. La médula espinal se fijó en formalina tamponada neutra al 10% durante 7 d. Los tejidos fueron expuestos a la formalina, al alcohol, xilol y a la parafina con una máquina (Thermo Shandon Exelsior ES) y mojados

en parafina con técnicas de rutina. La médula fue cortada en láminas de 2 µm con la ayuda de un microtomo tipo rotatorio (Thermo Shandon Finesse 325). Los tejidos fueron colorados con hematoxilina y eosina y calculados por microscopía de luz (Olympus CX31) por un patólogo, que desconocía la designación de los grupos y los resultados de las mediciones comportamentales. La primera alteración neuropatológica observada en los ratones fue la degeneración aguda de la neurona eosinofílica¹⁴. Los grados de las alteraciones neuropatológicas dentro de una determinada región anatómica se calcularon de acuerdo con la evaluación subjetiva del número y de la distribución de las neuronas eosinofílicas (neurona roja), lo que significa degeneración neuronal irreversible. Reflejan el número aproximado de neuronas en degeneración presentes en las áreas neuroanatómicas afectadas de la siguiente forma: 1=ninguna; 2=1-20%; 3=21-40%; 4=41-60%; 5=61-100% neuronas muertas. Se calculó una puntuación neuropatológica global para cada ratón sumando las puntuaciones patológicas para todas las médulas espinales, 10 áreas examinadas para cada preparación.

Análisis estadístico

Los resultados del TPC fueron calculados con el análisis de variancia simple (ANOVA), seguido del test post-hoc de Dunnett para comparar a todos los grupos con el grupo control.

Para el examen de tolerancia, los valores de latencia del TPC del segundo, tercero y cuarto día fueron comparados con los resultados del primer día de cada grupo. Fueron realizados el test ANOVA seguido del test de Dunnett. La función motora no fue calculada porque todos los animales tenían un nivel cero de la función motora. El grado de alteración neuropatológica de la médula espinal se calculó con el test de Kruskal Wallis y el test-U de Mann Whitney. Un valor de $p < 0,05$ en ANOVA fue considerado significativo.

Resultados

Todos los ratones completaron el experimento y fueron incluidos en el análisis de datos. Todos los animales se recuperaron totalmente, estaban despiertos y se movían, comiendo y bebiendo normalmente 30 min después de la inyección. Durante el experimento, no se observó bloqueo motor en ninguno de los ratones. Ningún animal presentó lesiones visibles o sangrado de la médula espinal cuando se hizo la resección de la médula al final del experimento.

Las latencias en el TPC fueron prolongadas para todos los grupos en comparación con el grupo control sin bloqueo motor.

Los resultados de la latencia en el TPC en el primero, segundo, tercero y cuarto día en los minutos 5, 30 y 60 se pueden ver en la tabla 2. En el minuto 5, las latencias en el TPC fueron significativamente prolongadas en los grupos solución salina ($p < 0,02$), fentanilo y fentanilo + levobupivacaína ($p < 0,05$), en comparación con el grupo control. En el minuto 30, las latencias en el TPC aumentaron de forma estadísticamente significativa en los grupos solución salina ($p < 0,02$), fentanilo ($p < 0,01$) y fentanilo + levobupivacaína ($p < 0,02$), en comparación con el grupo control. Comprobamos que los valores del

Tabla 2 Efecto del tratamiento del fármaco repetido sobre el desarrollo de la tolerancia

Grupo	n	Latencia de placa caliente (s)					
		Día 1			Día 2		
		5 min	30 min	60 min	5 min	30 min	60 min
Control	8	1,3 ± 0,3	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,1 ± 0,1	1,3 ± 0,2	1,4 ± 0,3
Solución salina	8	5,3 ± 1,3	3,9 ± 0,3	2,9 ± 0,6	3,9 ± 0,7	2,1 ± 0,3 ^a	2,3 ± 0,3
Fentanilo	8	4,9 ± 0,7	4,4 ± 0,9	1,8 ± 0,3	3,1 ± 0,6 ^b	2,5 ± 0,5	2,1 ± 0,4
Levobupivacaína	8	3,9 ± 1	3,3 ± 0,5	3,5 ± 0,8	2,8 ± 0,5	2,4 ± 0,5	2,4 ± 0,5
Fentanilo + levobupivacaína	8	4,9 ± 1,1	3,8 ± 0,7	3,4 ± 0,4	2,9 ± 0,3	3,1 ± 0,9	3,4 ± 0,5

Grupo	n	Latencia de placa caliente (s)					
		Día 3			Día 4		
		5 min	30 min	60 min	5 min	30 min	60 min
Control	8	1,3 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,4 ± 0,2
Solución salina	8	2,7 ± 0,6	2,1 ± 0,1 ^a	2,6 ± 0,2	3,1 ± 0,6	3,6 ± 0,3	2,8 ± 0,4
Fentanilo	8	2,5 ± 0,2 ^c	2,5 ± 0,4	3,5 ± 0,6 ^d	2,6 ± 0,3 ^c	3 ± 0,5	3,6 ± 0,5 ^e
Levobupivacaína	8	2,8 ± 0,6	3 ± 1	3,4 ± 0,6	3,3 ± 1,2	3,3 ± 0,9	3,6 ± 0,7
Fentanilo + levobupivacaína	8	1,8 ± 0,3 ^b	3 ± 0,5	3,8 ± 0,8	3,8 ± 0,8	2,9 ± 0,4	3,4 ± 0,4

n, número de animales.

Valores expresados como promedio ± DE.

^a p < 0,001 comparado con el día 1, valor en el minuto 30.

^b p < 0,02 comparado con el día 1, valor en el minuto 5.

^c p < 0,01 comparado con el día 1, valor en el minuto 5.

^d p < 0,05 comparado con el día 1, valor en el minuto 60.

^e p < 0,02 comparado con el día 1, valor en el minuto 60.

TPC para los grupos levobupivacaína (p < 0,01) y fentanilo + levobupivacaína (p < 0,02) fueron significativamente diferentes a los del grupo control en el minuto 60.

El resultado de la latencia en el TPC en los minutos 5, 30 y 60 del segundo día fue prolongado en todos los grupos en comparación con el grupo control. Ese prolongamiento se consideró significativo en los grupos solución salina (p < 0,01), fentanilo y fentanilo + levobupivacaína (p < 0,05) en el minuto 5. En el minuto 30, no hubo diferencia estadísticamente significativa en latencias prolongadas. El incremento de los valores en el TPC del grupo fentanilo + levobupivacaína en el minuto 60 fue significativamente diferente del grupo control en el segundo día (p < 0,1).

En el grupo levobupivacaína, el resultado de la latencia en el TPC al tercer día, en los minutos 5, 30 y 60, fue significativamente prolongado en el minuto 5, en comparación con el grupo control (p < 0,05). Hubo un aumento significativo en los grupos fentanilo (p < 0,05), levobupivacaína (p < 0,05) y fentanilo + levobupivacaína (p < 0,02) al minuto 60.

En lo que respecta al resultado de la latencia en el TPC al cuarto día en los minutos 5, 30 y 60, no hubo alteración significativa en los valores del minuto 5 del TPC en el cuarto día. Pero sí hubo un aumento estadísticamente significativo de los valores al minuto 30 en los grupos solución salina (p < 0,02) y levobupivacaína (p < 0,05), en comparación con el grupo control. Las latencias en el TPC de los grupos fentanilo (p < 0,01), levobupivacaína (p < 0,01) y fentanilo + levobupivacaína (p < 0,05) fueron significativamente prolongadas en el minuto 60 en comparación con el grupo control (tabla 2).

En la figura 1 se puede observar que la aplicación repetida de fármacos evidenció efectos analgésicos. El grupo control mostró que no hubo alteración en el tiempo de respuesta analgésica durante 4 días. En el grupo solución salina, el tiempo de respuesta analgésica fue estadística y significativamente corto en el segundo y tercer días al minuto 30 (p < 0,001). En el grupo fentanilo, el tiempo de respuesta analgésica fue más corto en el segundo (p < 0,02), tercero (p < 0,01) y cuarto día (p < 0,01) al minuto 5 y en el tercero (p < 0,05) y cuarto día (p < 0,02) al minuto 60. En el grupo levobupivacaína no hubo alteración de la respuesta analgésica durante 4 días. En el grupo fentanilo + levobupivacaína, el tiempo de respuesta analgésica fue más corto al minuto 5 del tercer día (p < 0,02).

La figura 2 muestra los análisis neuropatológicos de las médulas espinales de todos los grupos. En la evaluación neuropatológica, la puntuación degenerativa de la neurona aumentó de forma estadísticamente significativa en el grupo fentanilo en comparación con los grupos control y solución salina (p < 0,05). El grupo fentanilo + levobupivacaína tuvo puntuaciones más altas de degeneración neuronal que los grupos control, solución salina y levobupivacaína (p < 0,01).

Discusión

Desde que Bier y Hildebrandt realizaron por primera vez una anestesia espinal con cocaína en 1898, la historia del uso de anestésico local vía espinal en seres humanos ha estado acompañada de aplicaciones generalizadas, con poco o ningún test de control para la neurotoxicidad¹⁵. En 1985, Ready

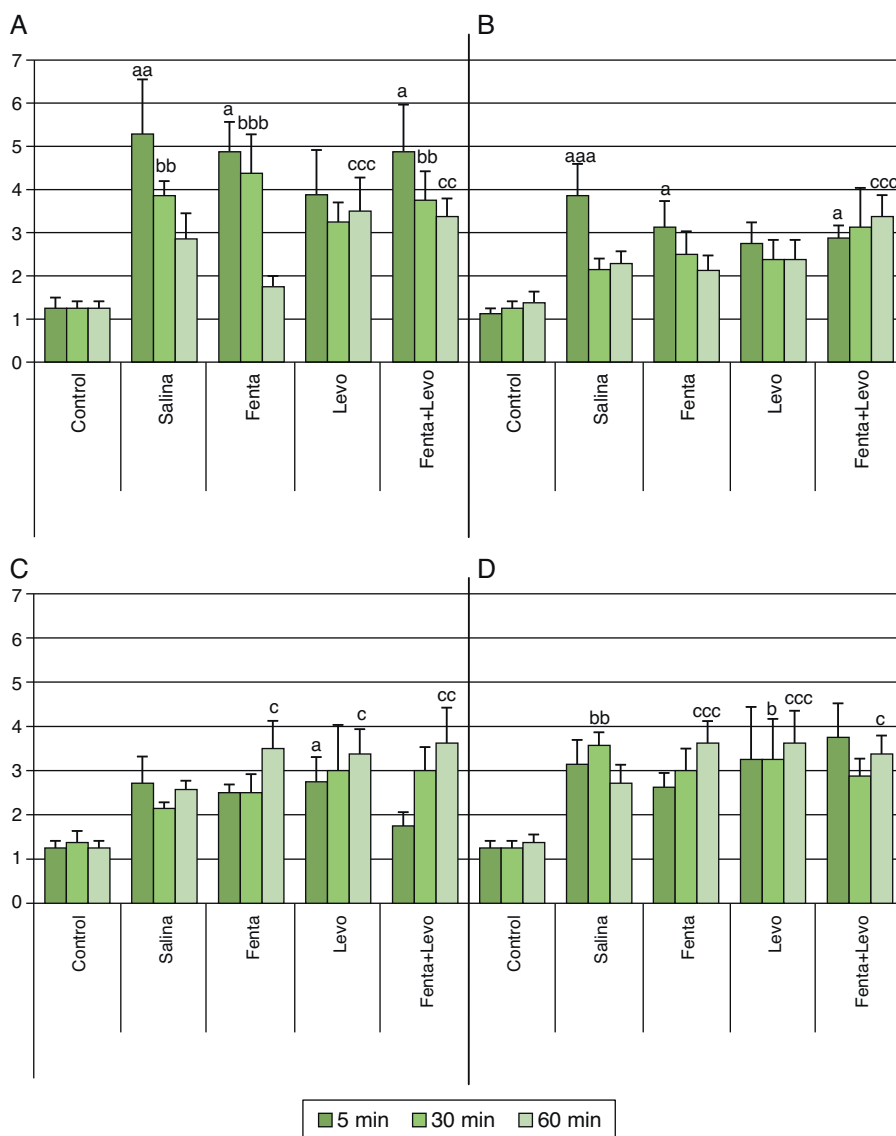


Figura 1 Efectos de las aplicaciones de los fármacos en el primer (A), segundo (B), tercero (C) y en el cuarto (D) días sobre los resultados de la latencia en el TPC.

Todos los datos aparecen expresados como promedio \pm DE.

^a $p < 0,05$, ^{aa} $p < 0,02$, ^{aaa} $p < 0,01$ de acuerdo con el valor en el quinto minuto para el grupo control.

^b $p < 0,05$, ^{bb} $p < 0,02$, ^{bbb} $p < 0,01$ de acuerdo con el valor en el trigésimo minuto para el grupo control.

^c $p < 0,05$, ^{cc} $p < 0,02$, ^{ccc} $p < 0,01$ de acuerdo con el valor en el sexagésimo minuto para el grupo control.

et al. calcularon los efectos neurotóxicos de las inyecciones únicas de anestésicos locales en conejos y relataron que las alteraciones histopatológicas y los déficits neurológicos se dieron con concentraciones más altas de tetracaína al 1% y lidocaína al 8%^{16,17}. Antes, las soluciones de anestésicos locales, administradas en dosis clínicamente eficaces, raramente provocaban daños neurológicos y la constatación de efectos neurotóxicos exigía dosis más elevadas de los fármacos. Para una lesión producida, Drasner et al. desarrollaron un modelo de ratón en el cual fueron continuamente infundidos anestésicos locales. En ese estudio, sin relevancia clínica, fueron observados el compromiso funcional y el daño morfológico¹⁸. Estudios anteriores hechos por Kofke et al. indicaron que los opiáceos pueden producir hipermetabolismo del sistema límbico y daños cerebrales cuando son administrados de forma sistemática y en altas dosis¹⁹⁻²¹.

En 2000, la densidad y baricidad de las mezclas usadas en anestesia espinal fueron determinadas por primera vez en Brasil²².

A la luz de esos estudios, queríamos observar si algunos medicamentos intratecales penetrarían de forma crónica en la médula espinal y si podrían ser neurotóxicos o no. En nuestro estudio, los resultados del TPC indicaron que no hubo bloqueo motor, pero los efectos analgésicos/antinociceptivos fueron significativos en todos los grupos.

Al minuto 5, las latencias en el TPC fueron prolongadas de forma estadísticamente significativa en el grupo solución salina ($p < 0,02$), en comparación con el grupo control. Igualmente, y después de las inyecciones repetidas, el tiempo de respuesta analgésica en el grupo solución salina disminuyó como sucedió con otros opiáceos analgésicos. No podemos

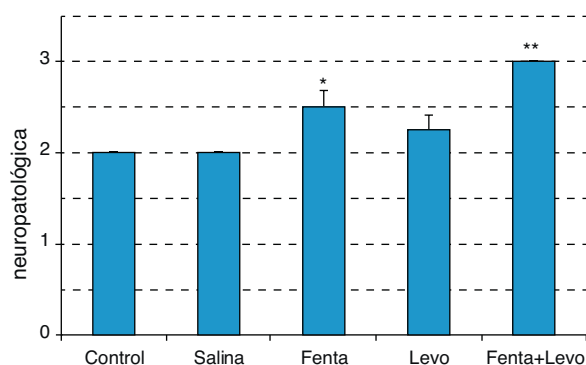


Figura 2 Efectos de las aplicaciones repetidas de los fármacos sobre la médula espinal.

Los datos aparecen expresados como promedio \pm DE.

* $p < 0,05$ comparado con los grupos control y salina.

** $p < 0,01$ comparado con los grupos control, salina y levobupivacaína.

explicar por qué la solución salina se comportó como una solución analgésica.

Después de las aplicaciones repetidas, el grupo fentanilo desarrolló una tolerancia al efecto analgésico, pero esa tolerancia no se desarrolló en el grupo levobupivacaína.

También testamos la diseminación rostral de los fármacos. Hace muchos años que sabemos que existen muchos factores que afectan la dispersión craneal de la anestesia espinal, lo que incluye el posicionamiento del paciente, la composición de la solución, el tipo de aguja, el nivel y la velocidad de la inyección, el volumen, la viscosidad, la obstrucción de la vena cava inferior y el embarazo²³⁻²⁷. Sin embargo, la baricidad y la temperatura de los anestésicos locales son los factores más importantes de la distribución del anestésico local en el espacio subaracnóideo²⁸⁻³⁰.

La densidad del LCR humano no es uniforme y puede variar con la edad, el sexo, el embarazo y con varias enfermedades. La relación entre la densidad del anestésico local y la del LCR se conoce como baricidad.

Los cambios de temperatura también afectan la distribución de los anestésicos locales. Cuando los anestésicos locales se inyectan en el espacio subaracnoideo (generalmente en temperatura ambiente de 20-24°C), la temperatura del anestésico local entra en equilibrio con la temperatura del cuerpo (37°C) muy rápidamente, antes de conectarse con las raíces nerviosas, y a los 37°C todos los anestésicos isobáricos se convierten en soluciones hipobáricas.

A menudo se añaden adyuvantes a los anestésicos locales para mejorar la anestesia y prolongar la analgesia postoperatoria. Los opiáceos (morfina, fentanilo y sufentanilo) y la clonidina mostraron ser hipobáricos a 37°C y, cuando se añaden a los anestésicos locales, reducen la densidad de la nueva solución, haciéndola más hipobárica de acuerdo con algunos estudios^{31,32}, pero no parece tener ningún efecto en la práctica clínica, lo que sugiere que el cambio de densidad es muy pequeño^{27,33-35}.

En nuestro estudio, la temperatura de las soluciones (temperatura ambiente 20-24°C) y su combinación con opiáceos afectaron la propagación rostral de los fármacos, pero ese mecanismo no explica el recuento excesivo de neuronas eosinofílicas, especialmente en algunos grupos.

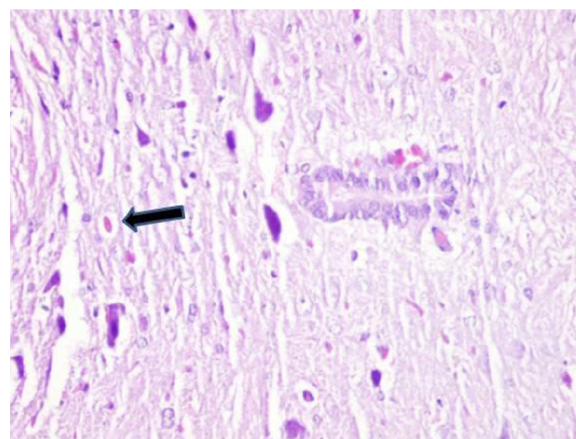


Figura 3 La flecha muestra la neurona eosinofílica de la médula espinal de ratón del grupo fentanilo.

En la práctica clínica existen muchos estudios en los cuales los anestésicos locales fueron diluidos con solución salina estéril isotónica como hicimos en nuestro estudio³⁶⁻³⁹. La difusión rostral de los fármacos puede ser explicada por la hipobaricidad de nuestras soluciones; sin embargo, en comparación con los resultados de Fukushima, nuestros resultados neuropatológicos mostraron que cuando los fármacos fueron usados incluso en dosis analgésicas muy bajas (sin bloqueo motor), los efectos neurotóxicos fueron permanentes en la médula espinal torácica⁴⁰. En nuestro estudio, usamos el recuento de neurona eosinofílica como señal de neurotoxicidad porque indicaba un daño neuronal no recuperable, en vez de hallazgos no específicos como vacuolización, edema, invasión de macrófagos y núcleos picnóticos⁴¹. En la [figura 3](#) podemos observar la degeneración de la neurona eosinofílica. Esa degeneración fue anteriormente determinada por Kofke et al.¹⁴.

En una investigación neuropatológica, la puntuación de degeneración de la neurona en la columna vertebral fue significativamente elevada en los grupos fentanilo y fentanilo+levobupivacaína, en comparación con los grupos control y solución salina. El grupo fentanilo+levobupivacaína también tuvo una puntuación mayor que el grupo levobupivacaína.

De hecho, uno de los principales objetivos de este estudio fue determinar las alteraciones neuropatológicas en la médula espinal después de su exposición crónica a medicamentos intratecales. Catéteres intratecales crónicamente implantados inducen característicamente lesiones en animales control, por tanto, preferimos la técnica de inyecciones repetidas en vez de catéter intratecal^{11,12}.

Nuestros datos confirman que el fentanilo y la levobupivacaína pueden causar daños a la médula espinal de ratones cuando son inyectados durante 4 días, aunque sea con dosis analgésicas.

Como colofón, podemos decir que nuestro estudio intentó explicar los diferentes lados de la neurotoxicidad. Este fue un estudio experimental con animales y posee un componente comportamental. La metodología neuropatológica es diferente y puede ser más objetiva que la de estudios anteriores; además, nuestro estudio tuvo como base estudios *in vitro* de la baricidad y distribución de anestésicos locales en LCR. Nuevos estudios deben ser planificados con

microscopia electrónica o estudios de comportamiento que puedan indicar que la penetración a largo plazo de los anestésicos locales causaría degeneraciones neuropatológicas en la médula espinal en el futuro.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Sakura S, Chan VW, Ciriales R, et al. The addition of 7.5% glucose does not alter the neurotoxicity of 5,5 lidocaine administered intrathecally in the rat. *Anesthesiology*. 1995;82:236–40.
- Sakura S, Bollen AW, Ciriales R, et al. Local anesthetic neurotoxicity does not result from blockade of voltage-gated sodium channels. *Anesth Analg*. 1995;81:338–46.
- Hashimoto K, Sakura S, Bollen AW, et al. Comparative toxicity of glucose and lidocaine administered intrathecally in the rat. *Reg Anesth Pain Med*. 1998;23:444–50.
- Sakura S, Kirihara Y, Muguruma T, et al. The comparative neurotoxicity of intrathecal lidocaine and bupivacaine in rats. *Anesth Analg*. 2005;101:541–7.
- Yamashita A, Matsumoto M, Matsumoto S, et al. Comparison of the neurotoxic effects on the spinal cord of tetracaine, lidocaine, bupivacaine, and ropivacaine administered intrathecally in rabbits. *Anesth Analg*. 2003;97:512–9.
- Aberg G. Toxicological and local anaesthetic effects of optically active isomers of two local anaesthetic compounds. *Acta Pharmacol*. 1972;31:273–86.
- McLeod GA, Burke D. Levobupivacaine anaesthesia. 2001;56:331–41.
- Gautier P, de Kock M, Huberty I, et al. Comparison of the effects of intrathecal ropivacaine, levobupivacaine, and bupivacaine for caesarean section. *Br J Anaesth*. 2003;91:684–9.
- Allen JW, Horais KA, Tozier NA, et al. Opiate pharmacology of intrathecal granulomas. *Anesthesiology*. 2006;105:590–8.
- Bahar M, Cohen ML, Grinshpoon Y, et al. An investigation of the possible neurotoxic effects of intrathecal midazolam combine with fentanyl in the rat. *EJA*. 1998;15:695–701.
- Bahar M, Rosen M, Vickers MD. Chronic cannulation of the intradural or extradural space in the rat. *Br J Anaesth*. 1984;56:405–10.
- Sakura S, Hashimoto K, Bollen A, et al. Intrathecal catheterisation in the rat: improved technique for morphologic analysis of drug induced injury. *Anesthesiology*. 1996;85:1184–9.
- Kaneko M, Saito Y, Kirihara Y, et al. Synergistic antinociceptive interaction after epidural coadministration of morphine and lidocaine in rats. *Anesthesiology*. 1994;80:137–50.
- Kofke WA, Garman RH, Garman R, et al. Opioid neurotoxicity: fentanyl-induced exacerbation of cerebral ischemia in rats. *Brain Res*. 1999;818:326–34.
- Bier A. Versuche uber Cocainisierung des Rückenmarkes. *Dtsch Z Chir*. 1899;51:361–9.
- Ready LB, Plumer MH, Haschke RH, et al. Neurotoxicity of intrathecal local anesthetics in rabbits. *Anesthesiology*. 1985;63:364–70.
- Hodgson PS, Neal JM, Pollock JE, et al. The neurotoxicity of drugs given intrathecally (spinal). *Anesth Analg*. 1999;88:797–809.
- Drasner K, Sakura S, Chan VWS. Persistent sacral sensory deficit induced by intrathecal local anesthetic infusion in the rat. *Anesthesiology*. 1994;80:847–52.
- Kofke WA, Garman RH, Tom WC, et al. Alfentanil-induced hypermetabolism, seizure, and histopathology in rat brain. *Anesth Analg*. 1992;75:953–64.
- Kofke WA, Garman RH, Janosky J, et al. Opioid neurotoxicity: neuropathologic effects in rats of different fentanyl congeners and the effects of hexamethonium-induced normotension. *Anesth Analg*. 1996;83:141–6.
- Kofke WA, Garman RH, Stiller RL, et al. Fentanyl dose-response relation in rats. *Anesth Analg*. 1996;83:1298–306.
- Cangiani LM. Determinação da densidade e da baricidade das misturas para anestesia subaracnóidea. *Rev Bras Anesthesiol*. 2000;50:92–4.
- Greene NM. Distribution of local anesthetic solutions within the subarachnoid space. *Anesth Analg*. 1985;64:715–30.
- Stienstra R, Greene NM. Factors affecting the subarachnoid spread of local anesthetic solutions. *Reg Anesth*. 1991;16:1–6.
- Carpenter RL, Hogan QH, Liu SS, et al. Lumbosacral cerebrospinal fluid volume is the primary determinant of sensory block extent and duration during spinal anesthesia. *Anesthesiology*. 1998;89:24–9.
- Connolly C, McLeod GA, Wildsmith JA. Spinal anaesthesia for Caesarean section with bupivacaine 5 mg/ml \pm 1 in glucose 8 or 80 mg/ml \pm 1. *Br J Anaesth*. 2001;86:805–7.
- McLeod GA. Density of spinal anaesthetic solutions of bupivacaine, levobupivacaine, and ropivacaine with and without dextrose. *Br J Anaesth*. 2004;92:547–51.
- Lui AC, Polis TZ, Cicutti NJ. Densities of cerebrospinal fluid and spinal anaesthetic solutions in surgical patients at body temperature. *Can J Anaesth*. 1998;45:297–303.
- Horlocker TT, Wedel DJ. Density, specific gravity, and baricity of spinal anesthetic solutions at body temperature. *Anesth Analg*. 1993;76:1015–8.
- Stienstra R, Gielen M, Kroon JW, et al. The influence of temperature and speed of injection on the distribution of a solution containing bupivacaine and methylene blue in a spinal canal model. *Reg Anesth*. 1990;15:6–11.
- Parlow JL, Money P, Chan PS, et al. Addition of opioids alters the density and spread of intrathecal local anesthetics? An in vitro study. *Can J Anaesth*. 1999;46:66–70.
- Hare GM, Ngan JC. Density determination of local anaesthetic opioid mixtures for spinal anaesthesia. *Can J Anaesth*. 1998;45:341–6.
- Patterson L, Avery N, Chan P, et al. The addition of fentanyl does not alter the extent of spread of intrathecal isobaric bupivacaine in clinical practice. *Can J Anaesth*. 2001;48:768–72.
- Imbelloni LE, Moreira AD, Gaspar FC, et al. Assessment of the densities of local anesthetics and their combination with adjuvants. An experimental study. *Rev Bras Anesthesiol*. 2009;59:154–65.
- Nicol ME, Holdcroft A. Density of intrathecal agents. *Br J Anaesth*. 1992;68:60–3.
- Faust A, Fournier R, van Gessel E, et al. Isobaric versus hypobaric spinal bupivacaine for total hip arthroplasty in the lateral position. *Anesth Analg*. 2003;97:589–94.
- Heller AR, Zimmermann K, Seele K, et al. Modifying the baricity of local anesthetics for spinal anesthesia by temperature adjustment model calculations. *Anesthesiology*. 2006;105:346–53.
- Srivastava U, Kumar A, Saxena S, et al. Spinal anaesthesia with lignocaine and fentanyl. *Indian J Anaesth*. 2004;48:121–3.
- Ben-David B, Solomon E, Levin H, et al. Intrathecal fentanyl with small dose dilute bupivacaine: better anaesthesia without prolonging recovery. *Anesth Analg*. 1997;85:560–5.
- Fukushima S, Takenami T, Yagishita S, et al. Neurotoxicity of intrathecally administered fentanyl in a rat spinal model. *Pain Med*. 2011;12:717–25.
- Pires SRO, Ganem EM, Maqus M, et al. Effects of increasing spinal hyperbaric lidocaine concentrations on spinal cord and meninges. Experimental study in dogs. *Rev Bras Anesthesiol*. 2006;56:253–62.