



# REVISTA BRASILEIRA DE ANESTESIOLOGIA

Official Publication of the Brazilian Society of Anesthesiology  
www.sba.com.br



## ARTÍCULO CIENTÍFICO

# Efectos Antinociceptivos, Analgésicos e Histopatológicos de Dexmedetomidina y Bupivacaína Intratecal en Ratones

Başar Erdivanli\* <sup>1</sup>, Murat Altun <sup>2</sup>, Özlem K Sezen <sup>3</sup>, Serhan A Çolakoğlu <sup>3</sup>

1. MD, Departamento de Anestesiología y Cuidados Intensivos, Hospital de Educación e Investigación Rize
  2. MD, Departamento de Anestesiología y Cuidados Intensivos, Hospital de Educación e Investigación Zonguldak Divriği
  3. MD, Departamento de Anestesiología y Cuidados Intensivos, Hospital de Educación e Investigación Lütfi Kırdar, II
- Recibido de Meetings TARK 2009, 28 de octubre / 1 de noviembre de 2009, Antalya, Turquía

Artículo sometido el 29 de octubre, 2011. Aprobado el 27 de febrero, 2012.

### Descriptor:

ANESTESIA,  
Regional,  
raquianestesia;  
ANESTÉSICOS,  
Local, bupivacaína;  
ANALGÉSICOS,  
Dexmedetomidina;  
DOLOR; ANIMAL,  
Ratones.

### Resumen

**Justificativas y objetivos:** Este estudio investigó los efectos analgésicos y nociceptivos de la adición de dexmedetomidina a la bupivacaína en anestesia del neuro eje, usando los test de retirada de la cola (tail-flick [TF]) y de la placa caliente (hot-plate [HP]) y microscopía de luz para las alteraciones histopatológicas de nervios espinales y raíces nerviosas.

**Métodos:** Cuarenta ratones anestesiados, Sprague-Dawley machos, fueron cateterizados intratecalmente. Los valores basales de los testes TF y HP fueron medidos antes y después del cateterismo. Treinta y seis ratones cateterizados con éxito fueron distribuidos en cuatro grupos. El Grupo B recibió 10 µg de bupivacaína, el Grupo BD3 recibió 10 µg de bupivacaína + 3 µg de dexmedetomidina, el Grupo BD10 recibió 10 µg de bupivacaína + 10 µg de dexmedetomidina y el Grupo Control recibió 10 µL de líquido cefalorraquídeo artificial. Los test TF y HP se hicieron entre cinco y 300 minutos a partir de la administración de los fármacos. Veinte y cuatro horas después de la administración, los ratones fueron sacrificados y se les retiraron las médulas espinales y las raíces nerviosas para investigación patológica.

**Resultados:** Los valores basales de los test TF y HP no fueron estadísticamente diferentes entre los grupos ( $6,8 \pm 0,15$  s). Las latencias de TF y HP en el Grupo Control no tenían ninguna alteración significativa durante el estudio. Los resultados de los test TF y HP mostraron que la adición de 3 y 10 µg de dexmedetomidina causó un aumento dosis dependiente en la duración y en la amplitud del efecto analgésico y nociceptivo de bupivacaína (TF:  $37,52 \pm 1,08\%$ ,  $57,86 \pm 1,16\%$ , respectivamente; HP:  $44,24 \pm 1,15\%$ ,  $68,43 \pm 1,24\%$ , respectivamente).

**Conclusiones:** No hubo alteraciones histopatológicas aparentes en por lo menos 24 horas después de la administración intratecal de la dosis única de dexmedetomidina (3 µg y 10 µg). Dexmedetomidina añadido a la bupivacaína para raquianestesia mejora y prolonga la duración del bloqueo.

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

\*Correspondencia para: Rize Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İslampasa Mahallesi, Şehitler Caddesi, #: 74 53100/Rize, Türkiye. Phone: +905057800730, Fax: +904642170364

E-mail: berdivanli@gmail.com

## Introducción

La raquianestesia es el bloqueo de la transmisión nerviosa por medio de la inyección de un anestésico local en el líquido cefalorraquídeo<sup>1</sup>. La corta duración de la acción y las preocupaciones con la toxicidad resultaron en la adición de varios fármacos adjuntos<sup>2,3</sup>. Benzodiazepinas<sup>4</sup>, opioides<sup>5</sup>, neostigmina<sup>6</sup>, cetamina<sup>7</sup> y agonistas de receptores- $\alpha 2$ <sup>8,9</sup> fueron usados para suplir esas carencias. Muchos de esos adjuntos tienen efectos colaterales, tales como prurito, retención urinaria, depresión respiratoria, nistagmo, depresión cardíaca, náuseas y vómitos. Por no tener muchos de los efectos secundarios mencionados anteriormente y por poseer un perfil cerebral y respiratorio más seguro, los agonistas de los receptores- $\alpha 2$  prolongan la duración de los bloqueos motor y sensorial, lo que los hace mucho más populares en la anestesia neuroaxial.

En este estudio, investigamos el efecto de la dexmedetomidina adicionada a la bupivacaína en anestesia neuroaxial en las vías de conducción del dolor espinal y supraespinal usando los test de retirada de la cola (TF) y placa caliente (HP) y su efecto neurotóxico en los nervios espinales y en las raíces nerviosas usando la microscopía de luz.

## Métodos

Cuarenta ratones machos de la raza Sprague-Dawley (peso 350-400 g, con edad 15-16 semanas) llegaron de los Laboratorios de Ciencia de la Facultad de Veterinaria Pendik (Estambul, Turquía). Los ratones se alojaron en jaulas separadas sin limitación de agua y comida, y se mantuvieron en salas climatizadas (temperatura 20-24 °C, humedad relativa de 50-60%) en ciclos de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad (inicio del ciclo de oscuridad 19h). Todos los test se hicieron en el período de la mañana. Los animales fueron tratados de acuerdo con el *Guía para cuidado y uso de animales de laboratorio* elaborado por el Instituto de Investigaciones en Animales de Laboratorio, Consejo Nacional de Investigación. La aprobación ética para este estudio (Comité de Ética n° 13) la suministró el Comité de Ética de la Facultad de Veterinaria Pendik, Estambul, Turquía (Presidente, Dr. Muhammet AKSIN, PhD) el 19 de enero de 2009.

Los ratones pudieron ambientarse con el laboratorio durante tres días y sus pesos corporales se midieron diariamente a lo largo del estudio. Al cuarto día, todos los ratones recibieron un catéter por vía intratecal usando el método modificado de Yaksh 10. La anestesia intraperitoneal fue aplicada con 60 mg.kg<sup>-1</sup> de sodio pentobarbital y suplementos periódicos de 10 mg.kg<sup>-1</sup> de pentobarbital. La respuesta a la estimulación del pie fue monitorizada para garantizar la adecuación de la anestesia. Con los ratones en pronación, la región cervical fue raspada y esterilizada con iodopovidona. Una incisión longitudinal de 2 cm se hizo y la musculatura del pescuezo fue suavemente retraída para exponer la membrana atlanto-occipital. Después de perforar la membrana con una aguja calibre 18, estéril y desechable se verificó un flujo abundante de fluido cerebrospinal claro. Un cable guía de acero inoxidable de la aguja espinal, ajustado al interior del catéter de poliuretano de calibre 32 (PE32), fue usado para facilitar la inserción y evitar que se doblase el catéter y por ende lesionar la médula espinal. El catéter fue cuidadosamente insertado hasta el cuerpo vertebral T11 (7,4-7,7 cm) dentro del espacio vertebral a partir de la incisión, mientras

una ligera tensión se aplicó a la cola para posicionar la punta al nivel T11-12 vertebral, que se estimó estar al nivel L3-4 de la médula espinal. Después de la inserción, el canal fue aspirado y lavado con fluido cerebrospinal artificial (FCEA), preparado con agua estéril y adición de soluciones de electrolitos comerciales (Merck) para alcanzar una concentración final de (mEq.L<sup>-1</sup>) Na: 150, K: 3, Ca: 1,4, Mg: 0,8, P: 1 y Cl: 155 con un pH de 7,4 11. Un filtro bacteriano se fijó y selló en la extremidad exterior del catéter. La incisión fue suturada y el ratón fue colocado en una jaula separada durante tres días para recuperación. Los ratones fueron examinados para verificar la existencia de déficits motores y sensoriales después de la recuperación y evaluados diariamente por medio de una escala de cuatro puntos. Los animales con algún signo de déficit neurológico, infección, desplazamiento o tuplición del catéter fueron descartados. Cuatro animales quedaron fuera del estudio (dos por deceso durante la cateterización y dos por infección).

Treinta y seis ratones fueron aleatoriamente divididos en cuatro grupos. El procedimiento de randomización se hizo por medio de la equalización computarizada del promedio de los pesos corporales de cada grupo de ratones. Los fármacos para aplicación intratecal fueron disueltos en un volumen de 10  $\mu$ L de FCEA. Todos los fármacos fueron administrados durante el período de un minuto. El Grupo B recibió 10  $\mu$ g de bupivacaína, el Grupo BD3 recibió 10  $\mu$ g de bupivacaína + 3  $\mu$ g de dexmedetomidina, el Grupo BD10 recibió 10  $\mu$ g de bupivacaína + 10  $\mu$ g de dexmedetomidina y el Grupo Control recibió 10  $\mu$ L de FCEA al cuarto día posterior al cateterismo.

El test TF fue estructurado con una fuente de calor (lámpara de 100 Watts) centrada sobre la superficie dorsal de la cola, aproximadamente a 4 cm de la punta. La latencia para la retirada de la fuente de calor se midió. La no retirada en 14 segundos trajo como consecuencia la interrupción del estímulo para evitar daños a la cola.

El test HP fue estructurado con un medidor de analgesia de la placa caliente de la Columbus Instruments (Columbus, Ohio). La superficie de la placa caliente fue calentada a una temperatura constante de 55o C. La latencia para mover las patas posteriores o saltar fue medida. El tiempo de corte fue de 50 segundos para evitar daños a los tejidos. Los valores basales de los test TF y HP fueron medidos al primer, cuarto y séptimo día. Los valores posteriores a la inyección de los test se registraron a los 5, 10, 15, 20, 30, 45 y 60 minutos y a cada 30 minutos hasta 300 minutos. Los resultados se expresaron como porcentaje del efecto máximo posible (%EMP) de acuerdo con la siguiente fórmula: %EMP = (latencia posterior a la inyección - latencia antes de la inyección) x 100/(tiempo de corte - latencia antes de la inyección). El estudio fue encubierto en las fases de cateterismo, inyección de los fármacos y mensuración.

Después del término de los test, los animales fueron colocados en jaulas separadas y sacrificados al día siguiente (aproximadamente 24 horas después de la inyección) con una dosis intracardiaca de 1 mL de tiopental sódico al 26% y la médula espinal fue removida en un bloque por medio de una técnica modificada, descrita en otro estudio<sup>12</sup>. En resumen, y después de la resección de la piel circundante y del tejido muscular, la columna vertebral fue removida y toda la sección lumbar separada. La columna vertebral fue cuidadosamente cortada. Los cordones dorsales y ventrales se respetaron y se cortaron por fuera del foramen vertebral. Durante la retirada de los tejidos, el posicionamiento

del catéter fue verificado. Después de la fijación del tejido en formalina neutra con tapón al 10% (Fisher, Pittsburgh, Pennsylvania) por 48 horas, los cortes fueron mojados con parafina, cortados en un espesor de 5-10  $\mu\text{m}$  y colorados con hematoxilina-eosina, azul rápido de Luxol<sup>13</sup> y vaina de mielina de Weil<sup>14</sup>. Secciones longitudinales y paralelas se obtuvieron en la punta del catéter, 1 mm en cada lado de la punta, y en intervalos de 2 mm en cada lado hasta alcanzar una distancia de 10 mm. Las secciones fueron evaluadas por un neuropatólogo que no conocía las inyecciones.

## Análisis estadístico

Los datos fueron evaluados por el SPSS para Windows 17. Los pesos iniciales y los aumentos de peso de los ratones a lo largo del estudio fueron analizados por medio del test *t* de Student. Las distribuciones de los resultados de los test TF y HP fueron calculadas con el test de Shapiro-Wilk. Los resultados se estudiaron por medio del análisis de variancia con medidas repetidas y expresados como promedio  $\pm$  DE. La comparación *post-hoc* fue hecha con el procedimiento de Tukey. Los resultados de la función motora, sensorial e histopatológicos se calcularon con el teste exacto de Fisher. Las diferencias fueron consideradas significativas en  $p < 0,05$ .

## Resultados

En total, 40 animales se prepararon y cuatro animales fueron excluidos del estudio. Por tanto, los resultados de 36 animales fueron analizados. El análisis estadístico reveló una distribución normal de los pesos iniciales de los ratones; no hubo diferencias en la tendencia de aumento de peso y en el consumo de agua y comida a lo largo del estudio.

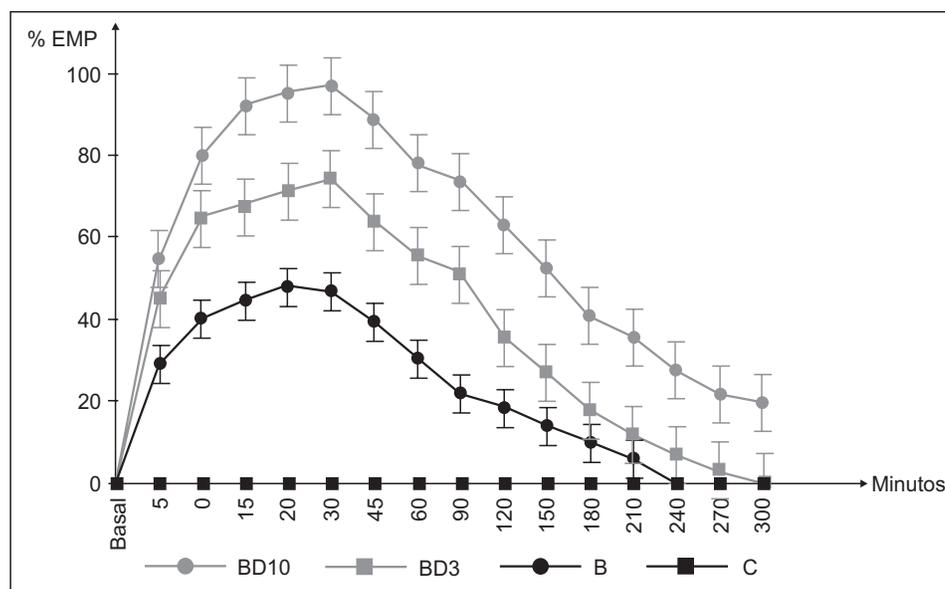
Las evaluaciones usando una escala de cuatro puntos no arrojaron signos de déficit neurológico, infección, desplazamiento o tuplición del catéter. Los valores basales de la %EMP en los test TF y HP no fueron estadísticamente diferentes entre los grupos (test *t* de Student) antes de la

administración del fármaco ( $4 \pm 1$  s para todos los grupos). Las latencias de TF y HP en el Grupo Control no tenían alteración significativa durante el estudio. Los valores medidos del pH fueron  $6,36 \pm 0,05$  para la bupivacaína,  $6,02 \pm 0,04$  para la dexmedetomidina y  $6,08 \pm 0,04$  para la combinación de la dexmedetomidina y la bupivacaína.

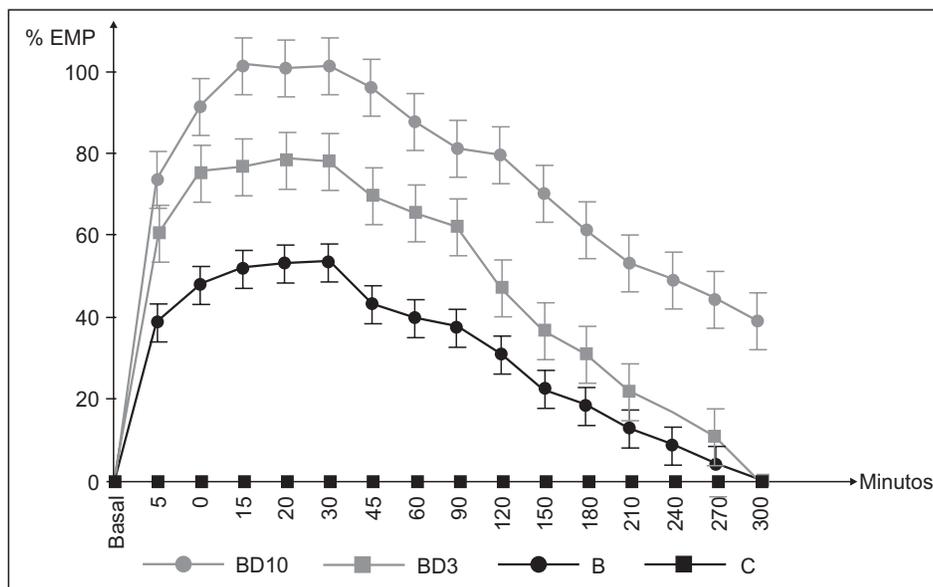
Durante el test TF, 10  $\mu\text{g}$  de bupivacaína causaron antinocicepción moderada, alcanzando el pico a los 20 minutos (promedio: 48,3%, DE: 0,9%) y manteniéndose hasta los 240 minutos. La adición de 3  $\mu\text{g}$  de dexmedetomidina a 10  $\mu\text{g}$  de bupivacaína causó un nivel elevado de antinocicepción alcanzando el pico a los 30 minutos (promedio: 74,4%, DE: 1,6%) y manteniéndose hasta los 300 minutos. La adición de 10  $\mu\text{g}$  de dexmedetomidina a 10  $\mu\text{g}$  de bupivacaína causó un elevado nivel de antinocicepción, alcanzando el pico a los 30 minutos (promedio: 97,9%, DE: 1,1%) y rebasando los 300 minutos (Figura 1).

El análisis de variancia de medidas repetidas (ANOVA) con la corrección de Greenhouse-Geisser determinó que los niveles promedios de %EMP fueron estadísticamente significativos entre los tiempos [ $F(8,631, 45) = 12460,737, p < 0,0005$ ]. Los test *post-hoc* con el procedimiento de Tukey mostraron que 10  $\mu\text{g}$  de bupivacaína causaron un aumento en los niveles de %EMP ( $22,07 \pm 0,98\%$  versus  $0,1 \pm 0,1\%$ , respectivamente), lo que fue estadísticamente significativo ( $p < 0,001$ ); la adición de 3  $\mu\text{g}$  de dexmedetomidina a la bupivacaína causó un aumento adicional en los niveles de %EMP ( $37,52 \pm 1,08\%$ ), lo que fue estadísticamente significativo ( $p < 0,001$ ); la adición de 10  $\mu\text{g}$  de dexmedetomidina a la bupivacaína causó un aumento adicional de los niveles de %EMP ( $57,86 \pm 1,16\%$ ), lo que fue estadísticamente significativo ( $p < 0,001$ ).

Durante el test HP, 10  $\mu\text{g}$  de bupivacaína causaron antinocicepción moderada, alcanzando el pico a los 30 minutos (promedio: 54%, DE: 1%) y manteniéndose hasta los 300 minutos. La adición de 3  $\mu\text{g}$  de dexmedetomidina a 10  $\mu\text{g}$  de bupivacaína causó un nivel elevado de antinocicepción,



**Figura 1** Evolución temporal del efecto antinociceptivo (%EMP) de los fármacos administrados por vía intratecal, medida por el test TF.



**Figura 2** Evolución temporal del efecto antinociceptivo (%EMP) de los fármacos administrados por vía intratecal, medida por el test HP.

alcanzando el pico a los 30 minutos (promedio: 76,9%, DE: 1,7%) y manteniéndose hasta los 300 minutos. La adición de 10  $\mu$ g de dexmedetomidina a 10  $\mu$ g de bupivacaína causó un nivel elevado de antinocicepción, alcanzando el pico a los 15 minutos (promedio: 98,7%, DE: 0,5%) y rebasando los 300 minutos (Figura 2).

El análisis de variancia de medidas repetidas (ANOVA) con la corrección de Greenhouse-Geisser determinó que los niveles promedios de %EMP fueron estadísticamente significativos entre los tiempos [F (7,655, 45) = 12612,953,  $p < 0,0005$ ]. Los test *post-hoc* con el procedimiento de Tukey revelaron que 10  $\mu$ g de bupivacaína causaron un aumento en los niveles de %EMP ( $28,37 \pm 0,99\%$  versus  $0,1 \pm 0,1\%$ , respectivamente) lo que fue estadísticamente significativo ( $p < 0,001$ ); la adición de 3  $\mu$ g de dexmedetomidina a la bupivacaína causó un aumento adicional en los niveles de %EMP ( $44,24 \pm 1,15$ ) lo que fue estadísticamente significativo ( $p < 0,001$ ); a adición de 10  $\mu$ g de dexmedetomidina a la bupivacaína causó un aumento adicional de los niveles de %EMP ( $68,43 \pm 1,24\%$ ) lo que fue estadísticamente significativo ( $p < 0,001$ ).

En 24 horas después de la inyección, la estructura celular estaba preservada en todas las filminas. Ninguna alteración patológica fue observada en las masas blanca y gris y en las membranas pial, dural y aracnoide. Las raíces nerviosas de la columna vertebral y las células ganglionares mantuvieron sus morfologías. No hubo neurotoxicidad aparente en por lo menos 24 horas después de la administración de las dosis únicas de dexmedetomidina (3  $\mu$ g y 10  $\mu$ g [ $p > 0,05$ ]).

## Discusión

Este estudio mostró que la adición de dexmedetomidina a la bupivacaína en raquianestesia mejora la amplitud y la duración de la nocicepción a un estímulo térmico. La dexmedetomidina actúa en varios locales para mostrar su acción antinociceptiva; se vincula con las fibras-C pre-sinápticas

que transmiten estímulos nocivos de los receptores periféricos a la columna vertebral. Se conecta también a los adrenorreceptores  $\alpha_2A$  y  $\alpha_2C$  de las neuronas post-sinápticas presentes en las capas superficiales del cuerno dorsal de la columna vertebral<sup>15</sup>. Sus efectos antinociceptivos resultan tanto en la inhibición de las fibras-C pre-sinápticas como en la hiperpolarización de las neuronas post-sinápticas del cuerno dorsal<sup>16</sup>. Ishii y col. relataron que la dexmedetomidina indujo a la activación de los canales de K<sup>+</sup> a través de los adrenorreceptores  $\alpha_2A$  y  $\alpha_2C$ , resultando en la hiperpolarización de la sustancia gelatinosa de las neuronas<sup>15</sup>. Igualmente, Brummett y col. relataron que la acción antinociceptiva de dexmedetomidina depende de la inhibición de la acumulación de excitación a través de la corriente de cationes activados por la hiperpolarización ( $I_h$ ) y es revertida por la  $I_h$  agonista forskolina<sup>17</sup>.

Entre los métodos de cateterismo de la columna vertebral, el abordaje sacral es el más adecuado para la administración de fármaco vía epidural y el abordaje lumbar posee el riesgo de causar la lesión ósea y la inflamación a causa de los fijadores; por tanto, el abordaje atlanto-occipital ha venido siendo el preferido, porque ha sido muy bien descrito por Yaksh y col.<sup>10</sup>. Los catéteres PE32 fueron usados para minimizar los daños a la médula espinal y a las raíces nerviosas<sup>2</sup>. La vía espinal para la aplicación de los fármacos fue elegida para eliminar las preocupaciones con su difusión insuficiente a través de la membrana de la dura madre y también para observar el efecto de los fármacos, el pH y los catéteres en la médula espinal. Varios estudios evaluaron la colocación precisa del catéter perineural usando lidocaína u otro anestésico local para producir bloqueo motor. En nuestro estudio, ningún otro fármaco además de los fármacos en estudio se inyectó a través de los catéteres para minimizar los efectos del fármaco; por tanto, la colocación del catéter se verificó por el examen *post-mortem*.

Nuestro estudio mostró que la dosis de dexmedetomidina prolongó de forma dependiente la duración del bloqueo espinal y aumentó la calidad analgésica. Nuestros resultados están de acuerdo con los de Calasans y col., que relatan que el bloqueo espinal inducido por la levobupivacaína fue prolongado por la dexmedetomidina vía intratecal en dosis de hasta 0,4 mg y dosis intraperitoneales de hasta 40  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  y revertido por un antagonista  $\alpha$ -adrenérgico, ioimbina<sup>18</sup>. Esos resultados sugieren que la dexmedetomidina ejerce sus efectos por medio de los agonistas de los adrenorreceptores  $\alpha$ -2. Brummett y col. investigaron la adición de dexmedetomidina al bloqueo del nervio periférico inducido por ropivacaína<sup>19</sup>. Los autores administraron la dexmedetomidina en dosis de hasta 20  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , y el valor del pH de la combinación de ropivacaína y dexmedetomidina alcanzó  $5,69 \pm 0,05$ , lo que es mucho más ácido que los valores del pH medidos en este estudio para la combinación de los fármacos usados. Eso dicho junto a hecho de que el examen histopatológico de los tejidos nerviosos se hizo después de 24 horas de la administración del fármaco, pueden explicar por qué nuestro estudio no mostró signos de daños o inflamación del nervio.

La respuesta del TF es organizada al nivel de la columna vertebral, la respuesta del HP se mide por los niveles espinal y supraespinal<sup>20</sup>. El aumento de los tiempos de latencia de retirada en nuestro estudio fue similar en los resultados de los dos test (TF y HP). Eso puede sugerir que la dexmedetomidina administrada por vía intratecal no alcanzó los centros supraespinales o que los efectos en los centros supraespinales fueron menos prominentes que en las neuronas del cuerno dorsal.

En dos estudios diferentes que investigaron los efectos de la dexmedetomidina en los bloqueos de nervios, el tiempo de inicio de los bloqueos fue relatado como siendo más corto por Gupta y col. al calcular la raquianestesia en la cirugía abdominal inferior y por Esmaglu y col. en los bloqueos de nervios axilares<sup>16,21</sup>. En nuestro estudio, las primeras mediciones en los dos test se hicieron a los cinco minutos, lo que impidió al estudio de mostrar una posible diferencia entre los tiempos de inicio del efecto antinociceptivo. Como el tiempo de inicio de la anestesia es extremadamente importante en la anestesia regional, las mensuraciones rápidas y más comunes son necesarias para clarificar cualquier posible diferencia.

## Conclusiones

La Dexmedetomidina adicionada a la bupivacaína para la raquianestesia mejora la analgesia y prolonga la duración del bloqueo.

## Agradecimientos

El equipo de los Laboratorios de Ciencia de la Facultad de Veterinaria nos fue muy útil alojando a los animales. Los equipamientos de los test Tail-Flick y Hot-Plate fueron suministrados por el Departamento de Farmacología Clínica de la Facultad de Medicina de la Universidad Marmara. Los autores declararon no haber conflictos de interés.

## Referencias

- GR Charles BB - Local anesthetics. In: Ronald DM LI, Lee AF, Jeanine PWK, William LY - Miller's anesthesia. Philadelphia, Elsevier, Churchill Livingstone, 2005;573-604.
- Sakura S - Research on local anesthetic neurotoxicity using intrathecal and epidural rat models. *J Anesth*, 2007;21(4):533-534.
- Sakura S, Kirihara Y, Muguruma T et al. - The comparative neurotoxicity of intrathecal lidocaine and bupivacaine in rats. *Anesth Analg*, 2005;101(2):541.
- Bharti N, Madan R, Mohanty P et al. - Intrathecal midazolam added to bupivacaine improves the duration and quality of spinal anaesthesia. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2003;47(9):1101-1105.
- Karaman S, Kocabas S, Uyar M et al. - The effects of sufentanil or morphine added to hyperbaric bupivacaine in spinal anaesthesia for caesarean section. *Eur J Anaesthesiol*, 2006;23(04):285-291.
- Tan PH, Chia YY, Lo Y et al. - Intrathecal bupivacaine with morphine or neostigmine for postoperative analgesia after total knee replacement surgery. *Can J Anesth*, 2001;48(6):551-556.
- Togal T, Demirbilek S, Koroglu A et al. - Effects of s (+) ketamine added to bupivacaine for spinal anaesthesia for prostate surgery in elderly patients. *Eur J Anaesthesiol*, 2004;21(3):193-197.
- Kanazi G, Aouad M, Jabbour Khoury S et al. - Effect of low dose dexmedetomidine or clonidine on the characteristics of bupivacaine spinal block. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2006;50(2):222-227.
- Yoshitomi T, Kohjitani A, Maeda S et al. - Dexmedetomidine enhances the local anesthetic action of lidocaine via an  $\alpha$ -2a adrenoceptor. *Anesth Analg*, 2008;107(1):96.
- Yaksh TL, Rudy TA - Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. *Physiol Behav*, 1976;17(6):1031-1036.
- Reed D, Withrow C, Woodbury D - Electrolyte and acid-base parameters of rat cerebrospinal fluid. *Exp Brain Res*, 1967;3(3):212-219.
- Silva G, Feeney C, Mills L et al. - A novel and rapid method for culturing pure rat spinal cord astrocytes on untreated glass. *J Neurosci Meth*, 1998;80(1):75-79.
- Bancroft JD, Cook HC, Turner DR - Book manual of histological techniques. Churchill Livingstone Edinburgh, 1984;18-22,41-48,225.
- Weil A - A rapid method for staining myelin sheaths. *Arch Neurol Psychiatr*, 1928;20(2):392.
- Ishii H, Kohno T, Yamakura T et al. - Action of dexmedetomidine on the substantia gelatinosa neurons of the rat spinal cord. *Eur J Neurosci*, 2008;27(12):3182-3190.
- Gupta R, Verma R, Bogra J et al. - A comparative study of intrathecal dexmedetomidine and fentanyl as adjuvants to bupivacaine. *J Anaesthesiol, Clinical Pharmacology*, 2011;27(3):339.
- Brummett CM, Hong EK, Janda AM et al. - Perineural dexmedetomidine added to ropivacaine for sciatic nerve block in rats prolongs the duration of analgesia by blocking the hyperpolarization-activated cation current. *Anesthesiology*, 2011;115(4):836.
- Calasans Maia JA, Zapata Sudo G, Sudo RT - Dexmedetomidine prolongs spinal anaesthesia induced by levobupivacaine 0.5% in guinea pigs. *J Pharm Pharmacol*, 2005;57(11):1415-1420.
- Brummett CM, Padda AK, Amodeo FS et al. - Perineural dexmedetomidine added to ropivacaine causes a dose-dependent increase in the duration of thermal antinociception in sciatic nerve block in rat. *Anesthesiology*, 2009;111(5):1111.
- South SM, Edwards SR, Smith MT - Antinociception versus serum concentration relationships following acute administration of intravenous morphine in male and female sprague-dawley rats: differences between the tail flick and hot plate nociceptive tests. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2009;36(1):20-28.
- Esmaglu A, Yegenoglu F, Akin A et al. - Dexmedetomidine added to levobupivacaine prolongs axillary brachial plexus block. *Anesth Analg*, 2010;111(6):1548.