



REVISTA BRASILEIRA DE ANESTESIOLOGIA

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



ARTIGO CIENTÍFICO

Efeitos Antinociceptivos, Analgésicos e Histopatológicos de Dexmedetomidina e Bupivacaína Intratecal em Rato

Başar Erdivanli* ¹, Murat Altun ², Özlem K Sezen ³, Serhan A Çolakoglu ³

1. Médico, Departamento de Anestesiologia e Cuidados Intensivos, Hospital de Educação e Pesquisa Rize
 2. Médico, Departamento de Anestesiologia e Cuidados Intensivos, Hospital de Educação e Pesquisa Zonguldak Divriği
 3. Médico, Departamento de Anestesiologia e Cuidados Intensivos, Hospital de Educação e Pesquisa Lütfi Kırdar, II
- Recebido de Meetings TARK 2009, 28 de outubro - 1 de novembro de 2009, Antalya, Turquia

Submetido em 29 de outubro, 2011. Aprovado para publicação em 27 de fevereiro, 2012.

Unitermos:

ANESTESIA, Regional, raquianestesia;
ANESTÉSICOS,
Local, bupivacaína;
ANALGÉSICOS,
Dexmedetomidina;
DOR; ANIMAL, Rato.

Resumo

Justificativa e objetivos: Este estudo investigou os efeitos analgésicos e nociceptivos da adição de dexmedetomidina à bupivacaína em anestesia do neuroeixo usando os testes de retirada da cauda (tail-flick [TF]) e da placa quente (hot-plate [HP]) e microscopia de luz para as alterações histopatológicas de nervos espinhais e raízes nervosas.

Métodos: Quarenta ratos Sprague-Dawley anestesiados, machos, foram cateterizados intratecalmente. Os valores basais dos testes TF e HP foram medidos antes e depois do cateterismo. Trinta e seis ratos cateterizados com sucesso foram distribuídos em quatro grupos. O Grupo B recebeu 10 µg de bupivacaína, o Grupo BD3 recebeu 10 µg de bupivacaína + 3 µg de dexmedetomidina, o Grupo BD10 recebeu 10 µg de bupivacaína + 10 µg de dexmedetomidina e o Grupo Controle recebeu 10 µL de líquido cefalorraquidiano artificial. Os testes TF e HP foram feitos entre cinco e 300 minutos a partir da administração das drogas. Vinte e quatro horas após a administração, os ratos foram sacrificados e retiradas as medulas espinhais e raízes nervosas para investigação patológica.

Resultados: Os valores basais dos testes TF e HP não foram estatisticamente diferentes entre os grupos (6,8 ± 0,15 s). As latências de TF e HP no Grupo Controle não apresentaram alteração significativa durante o estudo. Os resultados dos testes TF e HP mostraram que a adição de 3 e 10 µg de dexmedetomidina causou um aumento dose-dependente na duração e amplitude do efeito analgésico e nociceptivo de bupivacaína (TF: 37,52 ± 1,08%, 57,86 ± 1,16%, respectivamente; HP: 44,24 ± 1,15%, 68,43 ± 1,24%, respectivamente).

Conclusões: Não houve alterações histopatológicas aparentes em pelo menos 24 horas após a administração intratecal da dose única de dexmedetomidina (3 µg e 10 µg). Dexmedetomidina adicionado à bupivacaína para raquianestesia melhora a analgesia e prolonga a duração do bloqueio.

© 2013 Sociedade Brasileira de Anestesiologia. Publicado pela Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

*Correspondência para: Rize Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İslampasa Mahallesi, Şehitler Caddesi, #: 74 53100/Rize, Türkiye.

Phone: +905057800730, Fax: +904642170364

E-mail: berdivanli@gmail.com

Introdução

Raquianestesia é o bloqueio da transmissão nervosa por meio da injeção de um anestésico local no líquido cefalorraquidiano¹. A curta duração da ação e as preocupações com a toxicidade resultaram na adição de vários fármacos adjuntos^{2,3}. Benzodiazepínicos⁴, opioides⁵, neostigmina⁶, cetamina⁷ e agonistas de receptores- α_2 ^{8,9} foram usados para suprir essas carências. Muitos desses adjuntos têm efeitos colaterais, tais como prurido, retenção urinária, depressão respiratória, nistagmo, depressão cardíaca, náuseas e vômitos. Por não ter muitos dos efeitos secundários acima mencionados e possuir um perfil cerebral e respiratório mais seguro, os agonistas dos receptores- α_2 prolongam a duração dos bloqueios motor e sensorial, o que os torna muito populares em anestesia neuroaxial.

Neste estudo, investigamos o efeito de dexmedetomidina adicionada à bupivacaína em anestesia neuroaxial nas vias de condução da dor espinhal e supraespinhal usando os testes de retirada da cauda (TF) e placa quente (HP) e seu efeito neurotóxico nos nervos espinhais e nas raízes nervosas usando microscopia de luz.

Materiais e métodos

Quarenta ratos machos da linhagem Sprague-Dawley (peso 350-400 g, idade 15-16 semanas) foram obtidos dos Laboratórios de Ciência da Faculdade de Veterinária Pendik (Istambul, Turquia). Os ratos foram alojados em gaiolas separadas, sem limitação de água e comida, e mantidos em salas climatizadas (temperatura 20-24 °C, umidade relativa de 50-60%) em ciclos de 12 horas de luz e 12 horas de escuridão (início do ciclo de escuridão 19h). Todos os testes foram feitos no período da manhã. Os animais foram tratados de acordo com o *Guia para cuidado e uso de animais de laboratório* elaborado pelo Instituto de Pesquisas em Animais de Laboratório, Conselho Nacional de Pesquisa. A aprovação ética para este estudo (Comitê de Ética nº 13) foi fornecida pelo Comitê de Ética da Faculdade de Veterinária Pendik, Istambul, Turquia (Presidente, Dr. Muhammet AKSIN, PhD) em 19 de janeiro de 2009.

Os ratos puderam se ambientar ao laboratório durante três dias e seus pesos corporais foram medidos diariamente ao longo do estudo. No quarto dia, todos os ratos receberam um cateter por via intratecal usando o método modificado de Yaksh¹⁰. Anestesia intraperitoneal foi aplicada com 60 mg.kg⁻¹ de sódio pentobarbital e suplementos periódicos de 10 mg.kg⁻¹ de pentobarbital. A resposta à estimulação do pé foi monitorada para garantir a adequação da anestesia. Com os ratos em pronação, a região cervical foi raspada e esterilizada com iodopovidona. Uma incisão longitudinal de 2 cm foi feita e a musculatura do pescoço foi suavemente retraída para expor a membrana atlanto-occipital. Depois de perfurar a membrana com uma agulha calibre 18, estéril e descartável, verificou-se um fluxo abundante de fluido cefalorraquidiano claro. Um fio guia de aço inoxidável da agulha espinhal, ajustado no interior do cateter de poliuretano de calibre 32 (PE32), foi usado para facilitar a inserção e evitar a dobra do cateter e lesão da medula espinhal. O cateter foi cuidadosamente inserido até o corpo vertebral T11 (7,4-7,7 cm) dentro do espaço vertebral a partir da incisão, enquanto uma ligeira tensão era aplicada à cauda para posicionar a ponta no nível

T11-12 vertebral, o qual foi estimado estar no nível L3-4 da medula espinhal. Após a inserção, o canal foi aspirado e lavado com fluido cefalorraquidiano artificial (FCEA), preparado com água estéril e adição de soluções de eletrólitos comerciais (Merck) para alcançar uma concentração final de (mEq.L⁻¹) Na: 150, K: 3, Ca: 1,4, Mg: 0,8, P: 1 e Cl: 155 com um pH de 7,4¹¹. Um filtro bacteriano foi fixado e vedado na extremidade exterior do cateter. A incisão foi suturada e o rato colocado em uma gaiola separada durante três dias para recuperação. Os ratos foram examinados para verificar a existência de déficits motores e sensoriais após a recuperação e avaliados diariamente por meio de uma escala de quatro pontos. Os animais com qualquer sinal de déficit neurológico, infecção, deslocamento ou entupimento do cateter foram descartados. Quatro animais foram excluídos do estudo (dois por morte durante a cateterização e dois por infecção).

Trinta e seis ratos foram randomicamente divididos em quatro grupos. O procedimento de randomização foi feito por meio de equalização computadorizada da média dos pesos corporais de cada grupo de ratos. Os fármacos para aplicação intratecal foram dissolvidos em um volume de 10 µL de FCEA. Todos os fármacos foram administrados durante o período de um minuto. O Grupo B recebeu 10 µg de bupivacaína, o Grupo BD3 recebeu 10 µg de bupivacaína + 3 µg de dexmedetomidina, o Grupo BD10 recebeu 10 µg de bupivacaína + 10 µg de dexmedetomidina e o Grupo Controle recebeu 10 µL de FCEA no quarto dia após o cateterismo.

O teste TF foi estruturado com uma fonte de calor (lâmpada de 100 Watts) focada sobre a superfície dorsal da cauda, aproximadamente a 4 cm da ponta. A latência para retirada da fonte de calor foi medida. A não retirada em 14 segundos resultou em interrupção do estímulo para evitar danos à cauda.

O teste HP foi estruturado com um medidor de analgesia da placa quente da Columbus Instruments (Columbus, Ohio). A superfície da placa quente foi aquecida a uma temperatura constante de 55°C. A latência para mover as patas posteriores ou saltar foi medida. O tempo de corte foi de 50 segundos para evitar danos aos tecidos. Os valores basais dos testes TF e HP foram medidos no primeiro, quarto e sétimo dia. Os valores pós-injeção dos testes foram registrados aos 5, 10, 15, 20, 30, 45 e 60 minutos e a cada 30 minutos até 300 minutos. Os resultados foram expressos como porcentagem do efeito máximo possível (%EMP) de acordo com a seguinte fórmula: %EMP = (latência pós-injeção - latência pré-injeção) x 100 / (tempo de corte - latência pré-injeção). O estudo foi duplo-cego nas fases de cateterismo, injeção dos fármacos e mensuração.

Após o término dos testes, os animais foram colocados em gaiolas separadas e sacrificados no dia seguinte (aproximadamente 24 horas após a injeção) com uma dose intracardíaca de 1 mL de tiopental sódico a 26% e a medula espinhal removida em bloco por meio de uma técnica modificada, descrita em outro estudo¹². Resumidamente, após a excisão da pele circundante e do tecido muscular, a coluna vertebral foi removida e toda a secção lombar separada. A coluna vertebral foi cuidadosamente cortada. Os cordões dorsais e ventrais foram poupados e cortados por fora do forame vertebral. Durante a remoção dos tecidos, o posicionamento do cateter foi verificado. Após a fixação do tecido em formalina neutra tamponada a 10% (Fisher, Pittsburgh,

Pennsylvania) por 48 horas, os cortes foram embebidos em parafina, fatiados em uma espessura de 5-10 μm e corados com hematoxilina-eosina, azul rápido de Luxol¹³ e bainha de mielina de Weil¹⁴. Secções longitudinais e paralelas foram obtidas na ponta do cateter, 1 mm em cada lado da ponta, e em intervalos de 2 mm em cada lado até atingir uma distância de 10 mm. As secções foram avaliadas por um neuropatologista que desconhecia as injeções.

Análise estatística

Os dados foram avaliados pelo SPSS 17 para Windows. Os pesos iniciais e os ganhos de peso dos ratos ao longo do estudo foram analisados por meio do teste *t* de Student. As distribuições dos resultados dos testes TF e HP foram avaliadas com o teste de Shapiro-Wilk. Os resultados foram estudados por meio da análise de variância com medidas repetidas e expressos como média \pm DP. A comparação *post-hoc* foi feita com o procedimento de Tukey. Os resultados da função motora, sensorial e histopatológicos foram avaliados com o teste exato de Fisher. As diferenças foram consideradas significativas em $p < 0,05$.

Resultados

No total, 40 animais foram preparados e quatro animais foram excluídos do estudo. Portanto, os resultados de 36 animais foram analisados. A análise estatística revelou uma distribuição normal dos pesos iniciais dos ratos; não houve diferença na tendência de ganho de peso e no consumo de água e comida ao longo do estudo.

Avaliações usando uma escala de quatro pontos não mostraram sinais de déficit neurológico, infecção, deslocamento ou entupimento do cateter. Os valores basais da %EMP nos testes TF e HP não foram estatisticamente diferentes entre os grupos (teste *t* de Student) antes da administração do fármaco (4 ± 1 s para todos os grupos). As latências de TF e HP no Grupo Controle não apresentaram alteração significativa

durante o estudo. Os valores medidos do pH foram $6,36 \pm 0,05$ para bupivacaína, $6,02 \pm 0,04$ para dexmedetomidina e $6,08 \pm 0,04$ para a combinação de dexmedetomidina e bupivacaína.

Durante o teste TF, 10 μg de bupivacaína causaram antinocicepção moderada, atingindo o pico aos 20 minutos (média: 48,3%, DP: 0,9%) e mantendo-se até 240 minutos. A adição de 3 μg de dexmedetomidina a 10 μg de bupivacaína causou um nível elevado de antinocicepção, atingindo o pico aos 30 minutos (média: 74,4%, DP: 1,6%) e mantendo-se até 300 minutos. A adição de 10 μg de dexmedetomidina a 10 μg de bupivacaína causou um elevado nível de antinocicepção, atingindo o pico aos 30 minutos (média: 97,9%, DP: 1,1%) e ultrapassando 300 minutos (Figura 1).

A análise de variância de medidas repetidas (ANOVA) com a correção de Greenhouse-Geisser determinou que os níveis médios de %EMP foram estatisticamente significativos entre os tempos [$F(8,631, 45) = 12460,737, p < 0,0005$] para o estudo TF. Os testes *post-hoc* com o procedimento de Tukey revelaram que 10 μg de bupivacaína causaram um aumento nos níveis de %EMP ($22,07 \pm 0,98\%$ versus $0,1 \pm 0,1\%$, respectivamente), o que foi estatisticamente significativo ($p < 0,001$); a adição de 3 μg de dexmedetomidina à bupivacaína causou um aumento adicional nos níveis de %EMP ($37,52 \pm 1,08\%$), o que foi estatisticamente significativo ($p < 0,001$); a adição de 10 μg de dexmedetomidina à bupivacaína causou um aumento adicional dos níveis de %EMP ($57,86 \pm 1,16\%$), o que foi estatisticamente significativo ($p < 0,001$).

Durante o teste HP, 10 μg de bupivacaína causaram antinocicepção moderada, atingindo o pico aos 30 minutos (média: 54%, DP: 1%) e mantendo-se até 300 minutos. A adição de 3 μg de dexmedetomidina a 10 μg de bupivacaína causou um nível elevado de antinocicepção, atingindo o pico aos 30 minutos (média: 76,9%, DP: 1,7%) e mantendo-se até 300 minutos. A adição de 10 μg de dexmedetomidina a 10 μg de bupivacaína causou um nível elevado de antinocicepção, atingindo o pico aos 15 minutos (média: 98,7%, DP: 0,5%) e ultrapassando 300 minutos (Figura 2).

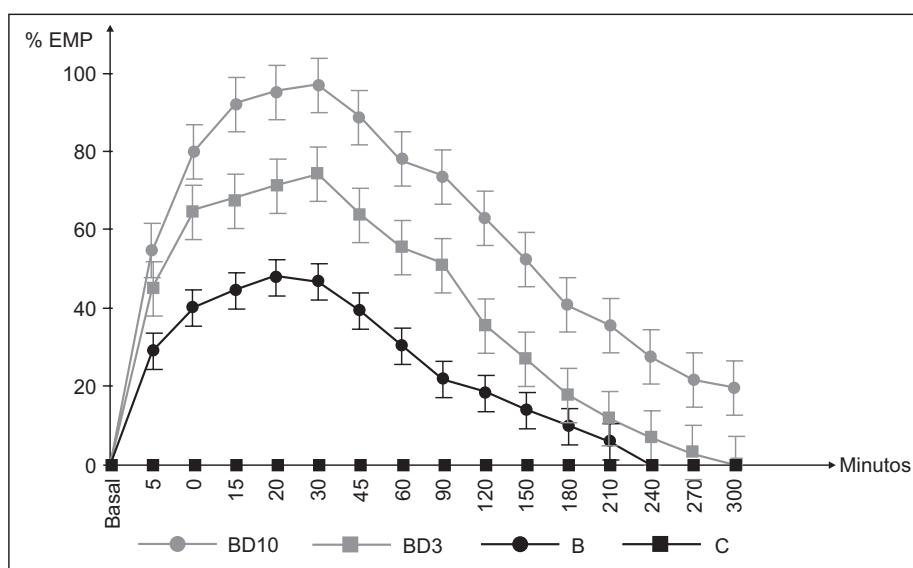


Figura 1 Evolução temporal do efeito antinociceptivo (%EMP) dos fármacos administrados por via intratecal, medida pelo teste TF.

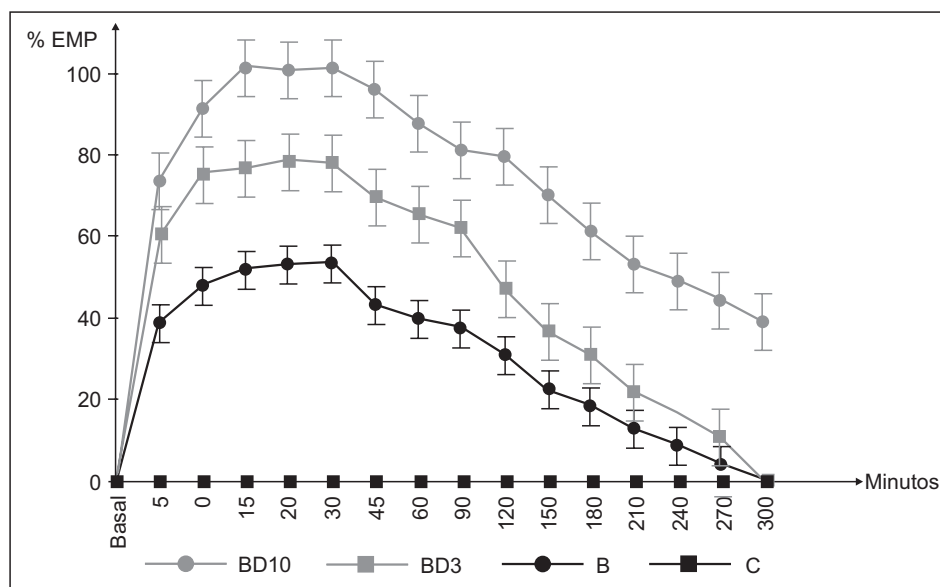


Figura 2 Evolução temporal do efeito antinociceptivo (%EMP) dos fármacos administrados por via intratecal, medida pelo teste HP.

A análise de variância de medidas repetidas (ANOVA) com a correção de Greenhouse-Geisser determinou que os níveis médios de %EMP foram estatisticamente significativos entre os tempos [F (7,655, 45) = 12612,953, $p < 0,0005$] para o estudo HP. Os testes *post-hoc* com o procedimento de Tukey revelaram que 10 μg de bupivacaína causaram um aumento nos níveis de %EMP ($28,37 \pm 0,99\%$ versus $0,1 \pm 0,1\%$, respectivamente), o que foi estatisticamente significativo ($p < 0,001$); a adição de 3 μg de dexmedetomidina à bupivacaína causou um aumento adicional nos níveis de %EMP ($44,24 \pm 1,15\%$), o que foi estatisticamente significativo ($p < 0,001$); a adição de 10 μg de dexmedetomidina à bupivacaína causou aumento adicional dos níveis de %EMP ($68,43 \pm 1,24\%$), o que foi estatisticamente significativo ($p < 0,001$).

Em 24 horas após a injeção, a estrutura celular estava preservada em todos os slides. Nenhuma alteração patológica foi observada nas massas branca e cinzenta e nas membranas pial, dural e aracnoide. As raízes nervosas da coluna vertebral e as células ganglionares mantiveram suas morfologias. Não houve neurotoxicidade aparente em pelo menos 24 horas após a administração das doses únicas de dexmedetomidina (3 μg e 10 μg [$p > 0,05$]).

Discussão

Este estudo mostrou que a adição de dexmedetomidina à bupivacaína em raquianestesia melhora a amplitude e duração da nocicepção a um estímulo térmico. Dexmedetomidina atua em vários locais para mostrar sua ação antinociceptiva; liga-se às fibras-C pré-sinápticas que transmitem estímulos nocivos dos receptores periféricos à coluna vertebral. Liga-se também aos adrenoceptores α_2A e α_2C dos neurônios pós-sinápticos presentes nas camadas superficiais do corno dorsal da coluna vertebral¹⁵. Seus efeitos antinociceptivos resultam tanto da inibição das fibras-C pré-sinápticas quanto da hiperpolarização dos neurônios pós-sinápticos do corno

dorsal¹⁶. Ishii e col. relataram que dexmedetomidina induziu a ativação dos canais de K^+ através dos adrenoceptores α_2A e α_2C , resultando em hiperpolarização dos neurônios da substância gelatinosa¹⁵. Da mesma forma, Brummett e col. relataram que a ação antinociceptiva de dexmedetomidina depende da inibição do acúmulo de excitação através da corrente de cátions ativada por hiperpolarização (I_h) e é revertida pela I_h agonista forskolina¹⁷.

Entre os métodos de cateterismo da coluna vertebral, a abordagem sacral é mais adequada para administração de fármaco via epidural e a abordagem lombar possui o risco de causar lesão óssea e inflamação por causa dos fixadores; portanto, a abordagem atlanto-occipital vem sendo preferida, pois foi bem descrita por Yaksh e col.¹⁰. Cateteres PE32 foram usados para minimizar os danos à medula espinhal e às raízes nervosas². A via espinhal para aplicação dos fármacos foi escolhida para eliminar as preocupações com a difusão insuficiente deles através da membrana da duramáter e também para observar o efeito das drogas, o pH e os cateteres na medula espinhal. Vários estudos avaliaram a colocação precisa do cateter perineural usando lidocaína ou outro anestésico local para produzir bloqueio motor. Em nosso estudo, nenhuma outra droga além das drogas em estudo foi injetada através dos cateteres para minimizar os efeitos da droga; portanto, a colocação do cateter foi verificada por exame *post-mortem*.

Nosso estudo mostrou que a dose de dexmedetomidina prolongou de forma dependente a duração do bloqueio espinhal e aumentou a qualidade analgésica. Nossos resultados estão de acordo com os de Calasans e col., os quais relataram que o bloqueio espinhal induzido por levobupivacaína foi prolongado por dexmedetomidina via intratecal em doses de até 0,4 mg e doses intraperitoneais de até 40 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ e revertido por um antagonista α -adrenérgico, ioimbina¹⁸. Esses resultados sugerem que dexmedetomidina exerce seus efeitos por meio dos agonistas dos adrenoceptores α_2 . Brummett e col.

investigaram a adição de dexmedetomidina ao bloqueio do nervo periférico induzido por ropivacaína¹⁹. Os autores administraram dexmedetomidina em doses de até 20 µg.kg⁻¹, e o valor do pH da combinação de ropivacaína e dexmedetomidina foi de 5,69 ± 0,05, o que é bem mais ácido do que os valores do pH medidos neste estudo para a combinação das drogas usadas. Isso e o fato de que o exame histopatológico dos tecidos nervosos foi feito após 24 horas de administração da droga podem explicar por que o nosso estudo não mostrou sinais de danos ou inflamação do nervo.

A resposta do TF é organizada no nível da coluna vertebral, a resposta do HP é mediada pelos níveis espinal e supraespinal²⁰. O aumento dos tempos de latência de retirada em nosso estudo foi semelhante nos resultados de ambos os testes (TF e HP). Isso pode sugerir que dexmedetomidina administrada por via intratecal não atingiu os centros supraespinhais ou que os efeitos nos centros supraespinhais foram menos proeminentes do que nos neurônios do corno dorsal.

Em dois estudos diferentes que investigaram os efeitos de dexmedetomidina em bloqueios de nervos, o tempo de início dos bloqueios foi relatado como sendo mais curto por Gupta e col. ao avaliarem a raqui-anestesia em cirurgia abdominal inferior e por Esmaglu e col. em bloqueios de nervos axilares^{16,21}. Em nosso estudo, as primeiras medições em ambos os testes foram feitas aos cinco minutos, o que impediu o estudo de mostrar uma possível diferença entre os tempos de início do efeito antinociceptivo. Como o tempo de início da anestesia é extremamente importante em anestesia regional, mensurações precoces e frequentes são necessárias para esclarecer qualquer possível diferença.

Conclusão

Dexmedetomidina adicionado à bupivacaína para raqui-anestesia melhora a analgesia e prolonga a duração do bloqueio.

Agradecimentos

A equipe dos Laboratórios de Ciência da Faculdade de Veterinária foi muito útil no alojamento dos animais. Os equipamentos dos testes Tail-Flick e Hot-Plate foram fornecidos pelo Departamento de Farmacologia Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade Marmara. Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

1. 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.
2. Sakura S - Research on local anesthetic neurotoxicity using intrathecal and epidural rat models. *J Anesth*, 2007;21(4):533-534.
3. Sakura S, Kirihiara Y, Muguruma T et al. - The comparative neurotoxicity of intrathecal lidocaine and bupivacaine in rats. *Anesth Analg*, 2005;101(2):541.

4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. Tugal 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.
8. 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.
9. Yoshitomi T, Kohjitani A, Maeda S et al. - Dexmedetomidine enhances the local anesthetic action of lidocaine via an -2a adrenoceptor. *Anesth Analg*, 2008;107(1):96.
10. Yaksh TL, Rudy TA - Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. *Physiol Behav*, 1976;17(6):1031-1036.
11. Reed D, Withrow C, Woodbury D - Electrolyte and acid-base parameters of rat cerebrospinal fluid. *Exp Brain Res*, 1967;3(3):212-219.
12. 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.
13. Bancroft JD, Cook HC, Turner DR - Book manual of histological techniques. Churchill Livingstone Edinburgh, 1984;18-22,41-48,225.
14. Weil A - A rapid method for staining myelin sheaths. *Arch Neurol Psychiatr*, 1928;20(2):392.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. Esmaglu A, Yegenoglu F, Akin A et al. - Dexmedetomidine added to levobupivacaine prolongs axillary brachial plexus block. *Anesth Analg*, 2010;111(6):1548.