



# REVISTA BRASILEIRA DE ANESTESIOLOGIA

Publicação Oficial da Sociedade Brasileira de Anestesiologia  
[www.sba.com.br](http://www.sba.com.br)



## ARTIGO CIENTÍFICO

# Efeitos neurotóxicos de levobupivacaína e fentanil sobre a medula espinhal de ratos

Yesim Cokay Abut<sup>a,\*</sup>, Asli Zengin Turkmen<sup>b</sup>, Ahmet Midi<sup>c</sup>, Burak Eren<sup>d</sup>,  
Nese Yener<sup>c</sup> e Asiy Nurten<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Anestesiologia, Kanuni Sultan Suleyman Education and Training Hospital, Istambul, Turquia

<sup>b</sup> Departamento de Fisiologia, Faculty of Medicine, Yeni Yuzyil University, Istambul, Turquia

<sup>c</sup> Departamento de Patologia, Faculty of Medicine, Maltepe University, Istambul, Turquia

<sup>d</sup> Departamento de Neurocirurgia, Bakirkoy Sadi Konuk Education and Training Hospital, Istambul, Turquia

Recebido em 20 de janeiro de 2013; aceito em 15 de julho de 2013

Disponível na Internet em 28 de outubro de 2014

### PALAVRAS-CHAVE

Levobupivacaína;  
Neurotoxicidade;  
Fentanil

### Resumo

**Justificativa:** O objetivo deste estudo foi comparar os efeitos neurotóxicos da administração por via intratecal de levobupivacaína e fentanil e suas misturas sobre a medula espinhal de ratos.

**Métodos:** O experimento compreendeu quatro grupos que receberam medicamento e um grupo controle. Os ratos foram submetidos a injeção de salina (15  $\mu$ L) ou fentanil (0,0005  $\mu$ g/15 mL), levobupivacaína a 0,25% (15  $\mu$ L) e fentanil (0,0005  $\mu$ g + levobupivacaína a 0,25%/15  $\mu$ L) por via intratecal durante quatro dias. O teste de placa quente foi usado para avaliar a função neurológica após cada injeção nos minutos cinco, 30 e 60. Cinco dias após a última injeção lombar, secções da medula espinhal entre os níveis vertebrais T5 e T6 foram obtidas para análise histológica. Usamos um escore com base na avaliação subjetiva do número de neurônios eosinofílicos (neurônios vermelhos), o que significa degeneração neuronal irreversível. Esses neurônios refletem o número aproximado de neurônios em degeneração presentes nas áreas neuroanatômicas afetadas da seguinte forma: 1 = nenhum; 2 = 1-20%; 3 = 21-40%; 4 = 41-60% e 5 = 61-100% neurônios mortos. Um escore neuropatológico global foi calculado para cada rato pela soma dos escores patológicos para todas as áreas examinadas da medula espinhal.

**Resultados:** Nos resultados do TPQ, comparando o grupo controle, a latência analgésica foi estatisticamente prolongada para todos os quatro grupos.

Em investimento neuropatológico, os grupos fentanil e fentanil + levobupivacaína apresentaram degeneração neuronal em contagens significativamente mais altas do que os grupos controle e salina.

**Conclusões:** Esses resultados sugerem que fentanil e levobupivacaína, quando administrados por via intratecal em ratos, se comportam de forma semelhante à ação analgésica, mas

\* Autor para correspondência.

E-mail: [yesimabut2000@yahoo.com](mailto:yesimabut2000@yahoo.com) (Y.C. Abut).

**KEYWORDS**

Levobupivacaine;  
Neurotoxicity;  
Fentanyl

fentanil pode ser neurotóxico para a medula espinhal. Não houve degeneração significativa com levobupivacaína, mas o grupo fentanil apresentou degeneração significativa.

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

**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 four groups with medication and a control group. Rats were injected 15  $\mu$ L saline or fentanyl 0.0005  $\mu$ g/15  $\mu$ L, levobupivacaine 0.25%/15  $\mu$ L and fentanyl 0.0005  $\mu$ g + levobupivacaine 0.25%/15  $\mu$ 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 HPT, comparing the control group, analgesic latency statistically prolonged for all four 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.

**Introdução**

O aumento de evidências laboratoriais<sup>1-5</sup> sugere que todos os anestésicos locais são potencialmente neurotóxicos e que o dano neurológico após o bloqueio neuraxial pode resultar do efeito direto de medicamentos neurotóxicos. Atualmente, a bupivacaína comercialmente disponível é uma mistura racêmica de enantiômeros S (-) e R (+). O seu enantiômero isolado, S (-) levobupivacaína, tem potencial inferior para produzir toxicidade no sistema nervoso central e cardiovascular do que o R (+) bupivacaína em animais e seres humanos.<sup>6-8</sup> Em abordagem clínica, o principal objetivo da administração de opiáceos por via espinhal é reduzir a dose do anestésico local para maximizar a eficácia e minimizar os efeitos colaterais dos medicamentos que atuam no sistema nervoso central. Os opiáceos lipofílicos, como fentanil, são comumente administrados por via espinhal em adultos. Há poucos relatos que abordam especificamente a histologia, fisiologia ou evidência clínica de neurotoxicidade com a administração de fentanil por via espinhal.<sup>9,10</sup>

No presente estudo, investigamos se repetidas injeções em *bolus* intratecal de fentanil, levobupivacaína e de sua combinação podem ser neurotóxicas para a medula espinhal em modelo de rato.

**Métodos**

O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa e Uso de Animais da Universidade de Istambul (Número: 26; 25/02/2010). Todos os experimentos foram feitos no Departamento de Neurociências do Instituto de Medicina Experimental, Universidade de Istambul (Detae). O experimento foi conduzido em ratos albinos Wistar, 6-8 meses de idade, com peso de 240-320 g. Os animais foram alocados em cinco grupos de oito cada. O grupo controle não recebeu medicamento. Após o posicionamento em decúbito ventral e a raspagem dos pelos, sob condições assépticas e sem anestésicos, os seguintes medicamentos foram injetados por via intratecal, uma vez por dia e no mesmo horário, durante quatro dias, no espaço intervertebral L4-5: solução isotônica (grupo salina), 50  $\mu$ g.mL<sup>-1</sup> de fentanil (grupo fentanil), 2,5 mg.mL<sup>-1</sup> levobupivacaína (grupo levobupivacaína) ou 50  $\mu$ g.mL<sup>-1</sup> de fentanil + 2,5 mg.mL<sup>-1</sup> de levobupivacaína (grupo fentanil + levobupivacaína). As soluções foram preparadas com citrato de fentanil (sem aditivo) (Fentanyl-Janssen, Janssen – Cilag, Bélgica) e cloridrato de bupivacaína (Chirocaine-Sigma Chemical, Steinheim, Alemanha). As soluções foram diluídas com solução salina estéril (Serum Physiologique 0,9%-Galen Deva-Kocaeli, Turquia) (tabela 1). Todas as

**Tabela 1** Densidade do LCR, salina isotônica, levobupivacaína e fentanil a 37° C

	37° C
LCR	1,000646 ± 0,000086
Salina	0,99951 ± 0,00001
Levobupivacaína – 2,5 mg/mL	0,99985 ± 0,00002
Fentanil	0,99333 ± 0,00002

soluções foram preparadas e injetadas a temperatura ambiente (20-24 °C). Como a implantação crônica de cateter intratecal pode induzir danos ao tecido,<sup>11,12</sup> preferimos a técnica de injeção intratecal em vez de cateter intratecal. A função neurológica foi observada e os testes de placa quente (TPQ) mensurados nos minutos cinco, 30 e 60, durante quatro dias seguidos depois de cada administração do medicamento. A resposta ao TPQ foi avaliada com a colocação dos ratos sobre uma placa metálica mantida a 45 °C. A latência entre a colocação do animal sobre a placa e a resposta comportamental foi registrada. A resposta de lambar as patas traseiras foi observada na maioria dos animais; no restante, o tempo de corte em que o animal responde ao tentar pular foi de 15 s. Os testes comportamentais foram feitos por um neurocientista, cegado para a designação dos grupos. A função motora dos membros posteriores foi avaliada bilateralmente e se classificou o bloqueio motor como: 0, nenhum; 1, parcialmente bloqueado e 2, completamente bloqueado.<sup>13</sup> O bloqueio motor foi classificado como nenhum quando o rato não apresentou fraqueza muscular visível das patas e a marcha era normal; parcialmente bloqueado quando os membros se moviam, mas não sustentavam o animal; completamente bloqueado quando os membros estavam flácidos, sem resistência detectável à extensão dos mesmos. Os animais foram examinados 30 minutos antes e após cada injeção. Os animais com problema de movimento da cauda ou disfunção motora dos membros posteriores não foram usados nos experimentos. O seguinte parâmetro foi mensurado e registrado durante um período de duas horas: bloqueio sensorial, determinado pela resposta ao teste da pinça hemostática. Após cada injeção, os ratos foram mantidos em regime de 12 horas claro/escuro e alojados com livre acesso a comida e água.

### Avaliação histológica

Após o último exame funcional, os ratos foram sacrificados com doses elevadas de pentobarbital (100 mg/kg), administradas por via intraperitoneal. A medula espinhal foi excisada por um neurocirurgião, cegado para a alocação dos grupos e para os resultados das mensurações comportamentais. Para descobrir a dispersão cranial dos anestésicos locais, as secções da medula espinhal obtidas a partir de T5-6 foram usadas para a avaliação qualitativa. A medula espinhal foi fixada em formalina tamponada neutra a 10% durante sete dias. Os tecidos foram expostos a formalina, álcool, xilol e parafina com o uso de máquina (Thermo Shandon Exsior ES) e embebidos em parafina com o uso de técnicas de rotina. A medula foi cortada em lâminas de 2 µm com a ajuda de um micrótomo tipo rotary (Thermo Shandon Finesse 325). Os tecidos foram corados com hematoxilina e

eosina e avaliados por microscopia de luz (Olympus CX31) por um patologista, cegado para a designação dos grupos e para os resultados das mensurações comportamentais. A primeira alteração neuropatológica observada nos ratos foi a degeneração aguda de neurônio eosinofílico.<sup>14</sup> Os graus das alterações neuropatológicas dentro de uma determinada região anatômica foram pontuados com base na avaliação subjetiva do número e distribuição dos neurônios eosinofílicos (neurônio vermelho), o que significa degeneração neuronal irreversível. Eles refletem o número aproximado de neurônios em degeneração presentes nas áreas neuroanômicas afetadas da seguinte forma: 1, nenhum; 2, 1-20%; 3, 21-40%; 4, 41-60%; 5, 61-100% neurônios mortos. Um escore neuropatológico global foi calculado para cada rato, com a soma das pontuações patológicas para todas as medulas espinhais, 10 áreas examinadas para cada preparação.

### Análise estatística

Os resultados do TPQ foram avaliados com o uso da análise de variância simples (Anova), seguido pelo teste pós-hoc de Dunnett para comparar todos os grupos com o grupo controle.

Para o exame de tolerância, os valores de latência do TPQ do segundo, terceiro e quarto dias foram comparados com os resultados do primeiro dia de cada grupo e o teste Anova seguido pelo teste de Dunnett foram feitos. A função motora não foi avaliada porque todos os animais apresentavam nível zero da função motora. O grau de alteração neuropatológica da medula espinhal foi avaliado com o teste de Kruskal-Wallis e o teste U de Mann-Whitney. Um valor  $p < 0,05$  em Anova foi considerado significativo.

### Resultados

Todos os ratos completaram o experimento e foram incluídos na análise de dados. Todos os animais se recuperaram totalmente, estavam acordados e ativamente móveis, comendo e bebendo normalmente 30 minutos após a injeção. Durante o experimento, o bloqueio motor não foi observado em nenhum dos ratos. Nenhum animal apresentou lesões visíveis ou sangramento da medula espinhal quando a medula foi excisada no fim do experimento.

As latências no TPQ foram prolongadas para todos os grupos em comparação com o grupo controle sem bloqueio motor.

Os resultados da latência no TPQ no primeiro, segundo, terceiro e quarto dias nos minutos cinco, 30 e 60 podem ser vistos na [tabela 2](#). No quinto minuto, as latências no TPQ foram significativamente prolongadas nos grupos salina ( $p < 0,02$ ), fentanil e fentanil + levobupivacaína ( $p < 0,05$ ), em comparação com o grupo controle. No 30° minuto, as latências no TPQ aumentaram de forma estatisticamente significativa nos grupos salina ( $p < 0,02$ ), fentanil ( $p < 0,01$ ) e fentanil + levobupivacaína ( $p < 0,02$ ), em comparação com o grupo controle. Verificou-se que os valores do TPQ para os grupos levobupivacaína ( $p < 0,01$ ) e fentanil + levobupivacaína ( $p < 0,02$ ) foram significativamente diferentes dos valores do grupo controle no 60° minuto.

O resultado da latência no TPQ nos minutos cinco, 30 e 60 do segundo dia foi prolongado em todos os grupos, em

**Tabela 2** Efeitos do tratamento farmacológico repetido no desenvolvimento da tolerância

Grupo	n	Latência em placa aquecida					
		Dia 1			Dia 2		
		5 min	30 min	60 min	5 min	30 min	60 min
Controle	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
Salina	8	5,3 ± 1,3	3,9 ± 0,3	2,9 ± 0,6	3,9 ± 0,7	2,1 ± 0,3 <sup>a</sup>	2,3 ± 0,3
Fentanil	8	4,9 ± 0,7	4,4 ± 0,9	1,8 ± 0,3	3,1 ± 0,6 <sup>b</sup>	2,5 ± 0,5	2,1 ± 0,4
Levobupivacaína	8	3,9 ± 1,0	3,3 ± 0,5	3,5 ± 0,8	2,8 ± 0,5	2,4 ± 0,5	2,4 ± 0,5
Fentanil+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
		Dia 3			Dia 4		
		5 min	30 min	60 min	5 min	30 min	60 min
Controle	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
Salina	8	2,7 ± 0,6	2,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,2	3,1 ± 0,6	3,6 ± 0,3	2,8 ± 0,4
Fentanil	8	2,5 ± 0,2 <sup>c</sup>	2,5 ± 0,4	3,5 ± 0,6 <sup>d</sup>	2,6 ± 0,3 <sup>c</sup>	3,0 ± 0,5	3,6 ± 0,5 <sup>e</sup>
Levobupivacaína	8	2,8 ± 0,6	3,0 ± 1,0	3,4 ± 0,6	3,3 ± 1,2	3,3 ± 0,9	3,6 ± 0,7
Fentanil+levobupivacaína	8	1,8 ± 0,3 <sup>b</sup>	3,0 ± 0,5	3,8 ± 0,8	3,8 ± 0,8	2,9 ± 0,4	3,4 ± 0,4

n, número de animais.

Valores expressos como média ± DP.

<sup>a</sup> p < 0,001 comparado ao Dia 1, valor no minuto 30.

<sup>b</sup> p < 0,02 comparado ao Dia 1, valor no minuto 5.

<sup>c</sup> p < 0,01 comparado ao Dia 1, valor no minuto 5.

<sup>d</sup> p < 0,05 comparado ao Dia 1, valor no minuto 60.

<sup>e</sup> p < 0,02 comparado ao Dia 1, valor no minuto 60.

comparação com o grupo controle. Esse prolongamento foi considerado significativo nos grupos salina (p < 0,01), fentanil e fentanil + levobupivacaína (p < 0,05) no quinto minuto. No 30º minuto, não houve diferença estatisticamente significativa em latências prolongadas. O incremento dos valores no TPQ do grupo fentanil + levobupivacaína no 60º minuto foi significativamente diferente daquele do grupo controle no segundo dia (p < 0,1).

No grupo levobupivacaína, o resultado da latência no TPQ no terceiro dia, nos minutos cinco, 30 e 60, foi significativamente prolongado no quinto minuto, em comparação com o grupo controle (p < 0,05). Houve um aumento significativo nos grupos fentanil (p < 0,05), levobupivacaína (p < 0,05) e fentanil + levobupivacaína (p < 0,02) no 60º minuto.

O resultado da latência no TPQ no quarto dia, nos minutos cinco, 30 e 60, não apresentou alteração significativa nos valores do quinto minuto do TPQ no quarto dia. Houve aumento estatisticamente significativo dos valores no 30º minuto nos grupos salina (p < 0,02) e levobupivacaína (p < 0,05), em comparação com o grupo controle. As latências no TPQ dos grupos fentanil (p < 0,01), levobupivacaína (p < 0,01) e fentanil + levobupivacaína (p < 0,05) foram significativamente prolongadas no 60º minuto, em comparação com o grupo controle (tabela 2).

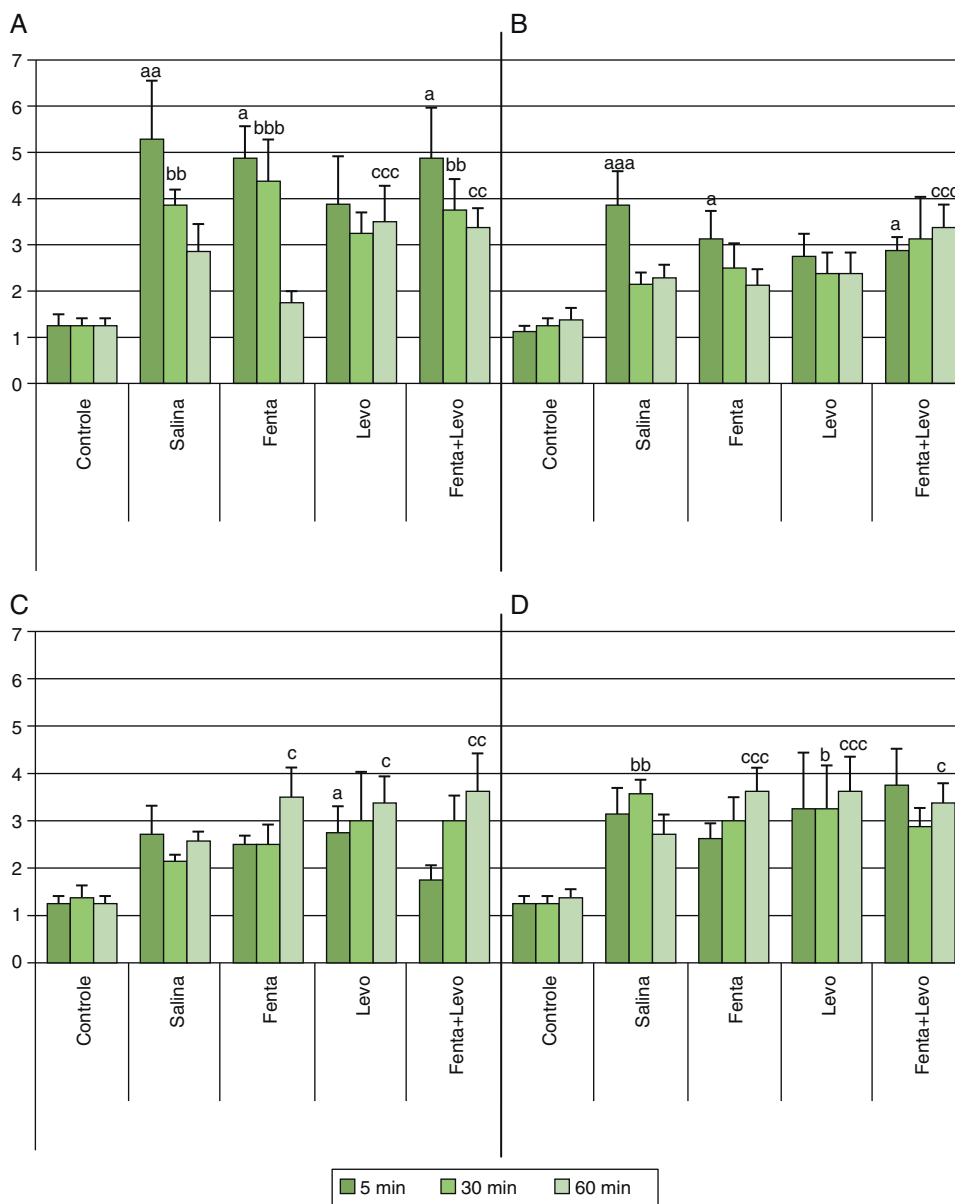
A figura 1 mostra que as aplicações repetidas dos medicamentos apresentaram efeitos analgésicos. O grupo controle mostrou que não houve alteração no tempo de resposta analgésica durante quatro dias. No grupo salina, o tempo de resposta analgésica foi estatística e significativamente curto no segundo e terceiro dias no 30º minuto (p < 0,001). No grupo fentanil, o tempo de resposta analgésica foi mais curto no segundo (p < 0,02), terceiro (p < 0,01) e quarto dias

(p < 0,01) no quinto minuto e no terceiro (p < 0,05) e quarto dias (p < 0,02) no 60º minuto. No grupo levobupivacaína não houve alteração da resposta analgésica durante quatro dias. No grupo fentanil + levobupivacaína, o tempo de resposta analgésica foi mais curto no quinto minuto do terceiro dia (p < 0,02).

A figura 2 mostra as análises neuropatológicas das medulas espinhais de todos os grupos. Na avaliação neuropatológica, o escore degenerativo do neurônio aumentou de forma estatisticamente significativa no grupo fentanil, em comparação com os grupos controle e salina (p < 0,05). O grupo fentanil + levobupivacaína mostrou escores mais altos de degeneração neuronal do que os grupos controle, salina e bupivacaína (p < 0,01).

## Discussão

Desde que Bier e Hildebrandt fizeram pela primeira vez uma raquianestesia com cocaína em 1898, a história do uso de anestésico local via espinhal em seres humanos foi acompanhada por aplicações generalizadas, com pouco ou nenhum teste de controle para neurotoxicidade.<sup>15</sup> Em 1985, Ready et al. avaliaram os efeitos neurotóxicos de injeções únicas de anestésicos locais em coelhos e relataram que alterações histopatológicas e déficits neurológicos ocorreram com concentrações mais altas de tetracaína a 1% e lidocaína a 8%.<sup>16,17</sup> No passado, as soluções de anestésicos locais, administradas em doses clinicamente eficazes, raramente provocavam dano neurológico e a constatação de efeitos neurotóxicos exigia doses maiores dos fármacos. Para uma lesão produzida, um modelo de rato no qual anestésicos locais foram continuamente infundidos foi desenvolvido



**Figura 1** Efeitos das aplicações dos fármacos no primeiro (A), segundo (B), terceiro (C) e quarto (D) dias sobre os resultados da latência no TPQ.

Todos os dados são expressos como média  $\pm$  DP.

<sup>a</sup> $p < 0,05$ , <sup>aa</sup> $p < 0,02$ , <sup>aaa</sup> $p < 0,01$  de acordo com o valor no quinto minuto para o grupo controle.

<sup>b</sup> $p < 0,05$ , <sup>bb</sup> $p < 0,02$ , <sup>bbb</sup> $p < 0,01$  de acordo com o valor no 30º minuto para o grupo controle.

<sup>c</sup> $p < 0,05$ , <sup>cc</sup> $p < 0,02$ , <sup>ccc</sup> $p < 0,01$  de acordo com o valor no 60º minuto para o grupo controle.

por Drasner et al. Nesse estudo, sem relevância clínica, o comprometimento funcional e o dano morfológico foram observados.<sup>18</sup> Estudos anteriores conduzidos por Kofke indicaram que opiáceos podem produzir hipermetabolismo do sistema límbico e danos cerebrais quando administrados de forma sistemática e em doses altas.<sup>19-21</sup> Em 2000, a densidade e a baricidade das misturas usadas em raquianestesia foram determinadas pela primeira vez no Brasil.<sup>22</sup>

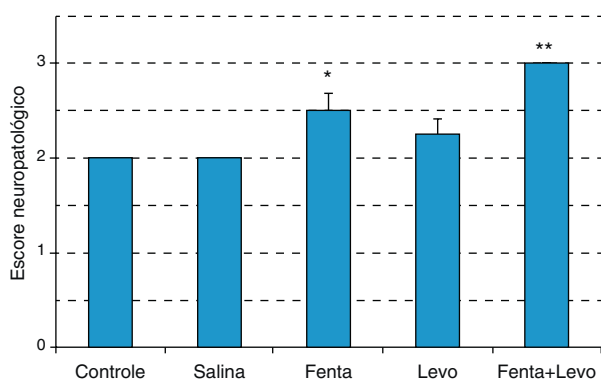
À luz desses estudos, queríamos observar se alguns medicamentos intratecais penetrariam de forma crônica na medula espinal e se poderiam ser neurotóxicos ou não. Em nosso estudo, os resultados do TPQ indicaram que não houve

bloqueio motor, mas os efeitos analgésicos/antinociceptivos foram significativos em todos os grupos.

No quinto minuto, as latências no TPQ foram prolongadas de forma estatisticamente significativa no grupo salina ( $p < 0,02$ ), em comparação com o grupo controle. De forma semelhante, após injeções repetidas, o tempo de resposta analgésica no grupo salina foi diminuído como com outros opiáceos analgésicos. Não podemos explicar por que a salina se comportou como uma solução analgésica.

Após aplicações repetidas, o grupo fentanil desenvolveu tolerância ao efeito analgésico, mas essa tolerância não foi desenvolvida no grupo levobupivacaína.





**Figura 2** Efeitos das aplicações repetidas dos fármacos sobre a medula espinhal.

Os dados são expressos como média  $\pm$  DP.

\* $p < 0,05$  comparado aos grupos controle e salina.

\*\* $p < 0,01$  comparado aos grupos controle, salina e levobupivacaína.

Também testamos a disseminação rostral dos fármacos. Há muitos anos, sabemos que existem muitos fatores que afetam a dispersão cranial da raquianestesia, incluindo posicionamento do paciente, composição da solução, tipo de agulha, nível e velocidade da injeção, volume, viscosidade, obstrução da veia cava inferior e gravidez.<sup>23-27</sup> Porém, a baricidade e a temperatura dos anestésicos locais são os fatores mais importantes da distribuição do anestésico local no espaço subaracnóideo.<sup>28-30</sup>

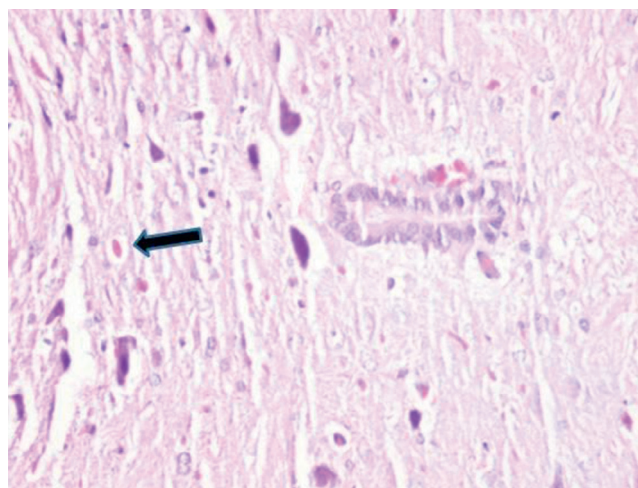
A densidade do líquido cefalorraquidiano (LCR) humano não é uniforme e pode variar com a idade, o sexo, a gravidez e várias doenças. A relação entre a densidade do anestésico local e a do LCR é conhecida como baricidade.

As mudanças de temperatura também afetam a distribuição dos anestésicos locais. Quando os anestésicos locais são injetados no espaço subaracnoideo (geralmente em temperatura ambiente 20-24 °C), a temperatura do anestésico local entra em equilíbrio com a temperatura do corpo (37 °C) muito rapidamente, antes de fixar-se às raízes nervosas, e aos 37 °C todos os anestésicos isobáricos se tornam soluções hipobáricas.

Adjuvantes são frequentemente adicionados aos anestésicos locais para melhorar a anestesia e prolongar a analgesia pós-operatória. Os opiáceos (morfina, fentanil e sufentanil) e a clonidina mostraram ser hipobáricos a 37 °C. Quando adicionados aos anestésicos locais, reduzem a densidade da nova solução e a tornam mais hipobárica, de acordo com alguns estudos,<sup>31,32</sup> mas não parece ter qualquer efeito na prática clínica. Isso sugere que a mudança de densidade é muito pequena.<sup>27,33-35</sup>

Em nosso estudo, a temperatura das soluções (temperatura ambiente 20-24 °C) e sua combinação com opiáceos afetaram a propagação rostral dos fármacos, mas esse mecanismo não explica a contagem excessiva de neurônios eosinofílicos, especialmente em alguns grupos.

Na prática clínica, há muitos estudos nos quais anestésicos locais foram diluídos com solução salina estéril isotônica como fizemos em nosso estudo.<sup>36-39</sup> A difusão rostral dos fármacos pode ser explicada pela hipobaricidade de nossas soluções; entretanto, em comparação com os resultados de Fukushima, nossos resultados neuropatológicos mostraram que quando os fármacos foram usados mesmo em doses



**Figura 3** A seta mostra o neurônio eosinofílico da medula espinhal de rato do grupo fentanil.

analgésicas muito baixas (sem bloqueio motor), os efeitos neurotóxicos foram permanentes na medula espinhal torácica.<sup>40</sup> Em nosso estudo, usamos a contagem de neurônio eosinofílico como sinal de neurotoxicidade porque o mesmo mostra dano neuronal não recuperável, em vez de achados não específicos, como vacuolização, edema, invasão de macrófagos e núcleos picnóticos.<sup>41</sup> Podemos observar a degeneração do neurônio eosinofílico na figura 3. Essa degeneração foi previamente determinada por Kofke.<sup>14</sup>

O escore de degeneração do neurônio na coluna vertebral foi significativamente elevado nos grupos fentanil e fentanil+levobupivacaína, em comparação com os grupos controle e salina. O grupo fentanil+levobupivacaína também apresentou escore maior do que o grupo levobupivacaína.

De fato, um dos principais objetivos deste estudo foi determinar as alterações neuropatológicas na medula espinhal após a sua exposição crônica a medicamentos intratecais. Cateteres intratecais cronicamente implantados caracteristicamente induzem lesões em animais controles. Portanto, preferimos a técnica de injeções repetidas em vez de cateter intratecal.<sup>11,12</sup>

Nossos dados confirmam que fentanil e levobupivacaína podem causar danos à medula espinhal de ratos quando injetados durante quatro dias, mesmo em doses analgésicas.

Em conclusão, nosso estudo procurou explicar os diferentes lados da neurotoxicidade. Este foi um estudo experimental com animais e tem um componente comportamental. A metodologia neuropatológica é diferente e pode ser mais objetiva do que a de estudos anteriores; além disso, nosso estudo teve como base estudos *in vitro* da baricidade e da distribuição de anestésicos locais em LCR. Novos estudos devem ser planejados com microscopia eletrônica ou estudos de comportamento que possam mostrar que a penetração em longo prazo de anestésicos locais pode causar degenerações neuropatológicas na medula espinhal, no futuro.

## Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

## Referências

1. Sakura S, Chan VW, Ciriales R, Drasner K. The addition of 7.5% glucose does not alter the neurotoxicity of 5% lidocaine administered intrathecally in the rat. *Anesthesiology*. 1995;82:236-40.
2. Sakura S, Bollen AW, Ciriales R, Drasner K. Local anesthetic neurotoxicity does not result from blockade of voltage-gated sodium channels. *Anesth Analg*. 1995;81:338-46.
3. 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.
4. Sakura S, Kirihara Y, Muguruma T, et al. The comparative neurotoxicity of intrathecal lidocaine and bupivacaine in rats. *Anesth Analg*. 2005;101:541-7.
5. Yamashita A, Matsumoto M, Matsumoto S, et al. A 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.
6. Aberg G. Toxicological and local anaesthetic effects of optically active isomers of two local anaesthetic compounds. *Acta Pharmacol*. 1972;31:273-86.
7. McLeod GA, Burke D. Levobupivacaine. *Anaesthesia*. 2001;56:331-41.
8. 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.
9. Allen JW, Horais KA, Tozier NA, et al. Opiate pharmacology of intrathecal granulomas. *Anesthesiology*. 2006;105:590-8.
10. 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.
11. Bahar M, Rosen M, Vickers MD. Chronic cannulation of the intradural or extradural space in the rat. *Br J Anaesth*. 1984;56:405-10.
12. 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(5):1184-9.
13. 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.
14. Kofke WA, Garman RH, Garman R, et al. Opioid neurotoxicity: fentanyl-induced exacerbation of cerebral ischemia in rats. *Brain Research*. 1999;818:326-34.
15. Bier A. Versuche über cocainisierung des rückenmarkes. *Dtsch Z Chir*. 1899;5151:361.
16. Ready LB, Plumer MH, Haschke RH, et al. Neurotoxicity of intrathecal local anesthetics in rabbits. *Anesthesiology*. 1985;63:364-70.
17. Hodgson PS, Neal JM, Pollock JE, et al. The neurotoxicity of drugs given intrathecally (spinal). *Anesth Analg*. 1999;88:797-809.
18. Drasner K, Sakura S, Chan VWS. Persistent sacral sensory deficit induced by intrathecal local anesthetic infusion in the rat. *Anesthesiology*. 1994;80:847-52.
19. Kofke WA, Garman RH, Tom WC, et al. Alfentanil-induced hypermetabolism, seizure, and histopathology in rat brain. *Anesth Analg*. 1992;75:953-64.
20. 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.
21. Kofke WA, Garman RHDVMS, Stiller RL, et al. Fentanyl dose-response relation in rats. *Anesth Analg*. 1996;83:1298-306.
22. Cangiani LM. Determinação da densidade e da baricidade das misturas para anestesia subaracnóidea. *Rev Bras Anesthesiol*. 2000;50:92-4.
23. Greene NM. Distribution of local anesthetic solutions within the subarachnoid space. *Anesth Analg*. 1985;64:715-30.
24. Stienstra R, Greene NM. Factors affecting the subarachnoid spread of local anesthetic solutions. *Reg Anesth*. 1991;16:1-6.
25. 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.
26. 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.
27. McLeod GA. Density of spinal anaesthetic solutions of bupivacaine, levobupivacaine, and ropivacaine with and without dextrose. *British Journal of Anaesthesia*. 2004;92(4):547-51.
28. 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.
29. Horlocker TT, Wedel DJ. Density, specific gravity, and baricity of spinal anesthetic solutions at body temperature. *Anesth Analg*. 1993;76:1015-8.
30. 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.
31. 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.
32. Hare GM, Ngan JC. Density determination of local anaesthetic opioid mixtures for spinal anaesthesia. *Can J Anaesth*. 1998;45:341-6.
33. 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.
34. 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.
35. Nicol ME, Holdcroft A. Density of intrathecal agents. *Br J Anaesth*. 1992;68:60-3.
36. 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.
37. 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.
38. Srivastava U, Kumar A, Saxena S, et al. Spinal anaesthesia with lignocaine and fentanyl. *Indian J Anaesth*. 2004;48:121-3.
39. Ben-David B, Solomon E, Levin H, et al. Intrathecal fentanyl with small dose dilute bupivacaine: better anesthesia without prolonging recovery. *Anesth Analg*. 1997;85:560-5.
40. Fukushima S, Takenami T, Yagishita S, et al. Neurotoxicity of intrathecally administered fentanyl in a rat spinal model. *Pain Med*. 2011;12:717-25.
41. 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.