

Univerza v Ljubljani
Veterinarska fakulteta



Matic Pavlica

**PODROČNA ANESTEZIJA ZGORNJE IN SPODNJE
ČELJUSTI PRI PSU: FARMAKOKINETIKA IN ODZIV
OBTOČIL NA PERINEVRALNI VNOS
DEKSMEDETOMIDINA IN LEVOBUPIVAKAINA**

Doktorska disertacija

**REGIONAL ANAESTHESIA OF UPPER AND LOWER JAW IN
DOG: PHARMACOKINETICKS AND CARDIOVASCULAR
RESPONSE TO PERINEURAL ADMINISTRATION OF
DEXMEDETOMIDINE AND LEVOBUPIVACAINE**

Doctoral dissertation

Ljubljana, 2023

M. Pavlica: Področna anestezija...farmakokinetika in odziv obtočil na vnos deksmedetomidina in levobupivakaina.
Ljubljana: UL, Veterinarska fakulteta, 2023. Doktorska disertacija

Univerza v Ljubljani
Veterinarska fakulteta



UDK 636.7:612.887:616.034-089.5:615.2:616-033:611.1(043.3)

asist. Matic Pavlica, dr. vet. med.

**PODROČNA ANESTEZIJA ZGORNJE IN SPODNJE
ČELJUSTI PRI PSU: FARMAKOKINETIKA IN ODZIV
OBTOČIL NA PERINEVRALNI VNOS
DEKSMEDETOMIDINA IN LEVOBUPIVAKAINA**

Doktorska disertacija

**REGIONAL ANAESTHESIA OF UPPER AND LOWER JAW IN
DOG: PHARMACOKINETICS AND CARDIOVASCULAR
RESPONSE TO PERINEURAL ADMINISTRATION OF
DEXMEDETOMIDINE AND LEVOBUPIVACAINE**

Doctoral dissertation

Ljubljana, 2023

Matic Pavlica

Področna anestezija zgornje in spodnje čeljusti pri psu: farmakokinetika in odziv obtočil na perinevralni vnos deksmedetomidina in levobupivakaina

Delo je bilo opravljeno na Kliniki za male živali Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani.

Javni zagovor je bil opravljen:

Mentorica: izr. prof. dr. Alenka Seliškar

Člani strokovne komisije za oceno in zagovor:

Predsednik: izr. prof. dr. Tomaž Snoj

Član: prof. dr. Mirt Kamenik

Članica: doc. dr. Monika Cecilija Žužek

Izjava o delu: Izjavljam, da je doktorska disertacija rezultat lastnega raziskovalnega dela, da so rezultati korektno navedeni in nisem kršil avtorskih pravic in intelektualne lastnine drugih. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu.

IZVLEČEK

Namen raziskave je bil pridobiti vpogled v farmakokinetiko in odgovor obtočil na perinevralno aplikacijo deksmedetomidina (DEX) in levobupivakaina (LB) in ugotoviti, ali DEX omeji odgovor organizma na stres. Štiridesetim psom, pri katerih smo v splošni anesteziji z izofluranom opravili stomatološki poseg, smo aplicirali 0,5 % LB za omrtvičenje obeh infraorbitalnih (IO) živcev ($0,11 \text{ mL/kg}^{2/3}$) in obeh inferiornih alveolarnih (IA) živcev ($0,18 \text{ mL/kg}^{2/3}$). Desetim psom smo poleg LB aplicirali DEX ($0,5 \text{ } \mu\text{g/kg}$) perinevralno ob IO živec (LB+DEX IO), desetim ob IA živec (LB+DEX IA), desetim pa intravensko (LB+DEX IV). Desetim psom smo intravensko aplicirali placebo (LB+PLC IV). Za določanje koncentracije LB in DEX s pomočjo analize LC-MS/MS smo odvzeli kri pred in po aplikaciji obeh učinkovin ter 1, 2, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 in 120 minut po aplikaciji. Srčno-žilne parametre smo prvih 12 minut po aplikaciji zdravil odčitali vsako minuto, nato pa na pet minut do konca posega. Za določanje koncentracije kortizola in glukoze smo odvzeli kri po uvodu v anestezijo in na koncu posega. V nadaljevanju smo v raziskavo vključili še 20 psov in jim samo na eno mesto aplicirali LB (IO ali IA blok). Kri za določanje koncentracije LB smo jim odvzeli ob enakih časovnih točkah kot v prvem delu raziskave. Absorpcija DEX je bila neznačilno hitrejša pri LB+DEX IO, medtem ko je bila pri LB+DEX IA boljša biološka razpoložljivost (56 % proti 48 %) in hitrejša eliminacija. Frekvenca srca je bila v primerjavi s placebo skupino značilno nižja pri vseh skupinah psov, ki so prejele DEX. Srednji arterijski tlak je bil v primerjavi z LB+PLC IV skupino značilno višji pri LB+DEX IV in LB+DEX IA. Koncentracija kortizola je bila neznačilno nižja na koncu posega pri vseh skupinah, koncentracija glukoze pa je bila značilno nižja na koncu posega le pri LB+DEX IA skupini. Stopnjo bolečine je 14 dni po posegu značilno nižje ocenil le stomatolog, ne pa tudi anesteziist in lastnik psa. Levobupivakain se je najhitreje absorbiral po aplikaciji ob IA živec (LB IA), vendar razlika v primerjavi z aplikacijo ob IO živec ni bila značilna. Lokacija perinevralne aplikacije DEX in LB ni vplivala na hitrost in količino sistemske absorpcije, DEX pa ni omejil perioperacijskega stresnega odgovora, najverjetneje zaradi izredno nizkega odmerka.

Ključne besede: področna anestezija; ustna votlina; pes; živčni bloki; deksmedetomidin; levobupivakain; farmakokinetika; srčno-žilni parametri

ABSTRACT

The aim of this study was to gain insight into the pharmacokinetics and cardiovascular response to perineural administration of dexmedetomidine (DEX) and levobupivacaine (LB) and to determine whether DEX limits the perioperative stress response. Forty dogs undergoing dental procedure under general anaesthesia with isoflurane were administered 0.5% LB to both infraorbital (IO) blocks ($0.11 \text{ mL/kg}^{2/3}$) and both inferior alveolar (IA) blocks ($0.18 \text{ mL/kg}^{2/3}$). In addition to LB, 10 dogs were administered DEX ($0.5 \text{ } \mu\text{g/kg}$) perineurally at IO nerve (LB + DEX IO), ten dogs at IA nerve (LB + DEX IA), and 10 dogs were administered DEX intravenously (LB + DEX IV). Ten dogs were administered a placebo intravenously (LB + PLC IV). Blood was collected to determine the concentration of LB and DEX using the LC-MS /MS analysis before and after administration of the two drugs and also at 1, 2, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, and 120 minutes thereafter. Cardiovascular parameters were measured every minute for the first 12 minutes and then every five minutes until the end of the procedure. Blood was drawn to determine cortisol and glucose concentrations after the induction of general anaesthesia and at the end of the procedure. Twenty additional dogs were included in the study and applied LB to only one site (IO or IA block). For the determination of LB, blood was collected at the same time points as in the first part of the study. The absorption of DEX was non-significantly faster in the LB + DEX IO group, whereas in the LB + DEX IA group, better bioavailability (56% vs. 48%) and faster elimination were observed. Heart rate was significantly lower in all groups of dogs receiving DEX compared to the placebo group. Mean arterial pressure was significantly higher in the LB + DEX IV and LB + DEX IA groups compared to the LB + PLC IV group. Cortisol concentration was non-significantly lower at the end of the procedure in all groups, and glucose concentration was significantly lower at the end of the procedure only in the LB + DEX IA group. Only the stomatologist, but not the anaesthesiologist and the dog owner, determined a significantly lower level of pain 14 days after the procedure. The fastest absorption of LB occurred after administration near the IA nerve (LB IA). The site of perineural application of DEX and LB did not affect the rate and amount of systemic absorption, and DEX did not limit the perioperative stress response, probably because of the low dose we used.

Key words: regional anaesthesia; oral cavity; dog; nerve blocks; dexmedetomidine; levobupivacaine; pharmacokinetics, cardiovascular parameters

KAZALO VSEBINE

IZVLEČEK	4
ABSTRACT	5
KAZALO VSEBINE.....	7
KAZALO SLIK.....	9
KAZALO TABEL.....	11
SEZNAM OKRAJŠAV	12
1 UVOD	14
1.1 Predstavitev problematike	14
1.2 Namen raziskave.....	15
1.3 Hipoteze.....	16
2 PREGLED LITERATURE.....	17
1.4 Lokalni anestetiki	17
1.4.1 Mehanizem delovanja lokalnih anestetikov	17
1.4.2 Bupivakain in levobupivakain.....	18
1.4.3 Farmakokinetika levobupivakaina	18
1.5 Agonisti adrenergičnih receptorjev α_2	19
1.5.1 Adrenergični receptorji	19
1.5.2 Adrenergični receptorji α	20
1.5.3 Deksmedetomidin.....	21
1.5.4 Mehanizem delovanja deksmedetomidina	22
1.5.5 Neželeni učinki deksmedetomidina	23
1.5.6 Farmakokinetika deksmedetomidina.....	23
1.6 Področna anestezija	24
1.6.1 Infraorbitalni blok	25
1.6.2 Inferiorni alveolarni blok	25
1.6.3 Področna anestezija ustne votline psov z bupivakainom	26
1.7 Perioperacijski stres.....	27
3 MATERIAL IN METODE	29
3.1 Zasnova raziskave.....	29
3.2 Odvzem vzorcev krvi za farmakokinetične analize deksmedetomidina in levobupivakaina.....	33

3.3	Odvzem vzorcev krvi za določanje koncentracije kortizola in glukoze	33
3.4	Določanje deksmedetomidina v krvi	33
3.5	Določanje levobupivakaina v krvi	34
3.6	Farmakokinetični izračuni za deksmedetomidin	35
3.7	Farmakokinetični izračuni za levobupivakain	36
3.8	Določanje koncentracije kortizola in glukoze v krvi	36
3.9	Ocena sedacije in obnašanja	37
3.10	Ocena bolečine in kvalitete življenja	37
3.11	Statistične analize	38
4	REZULTATI.....	39
4.1	Prvi del raziskave.....	39
4.1.1	Farmakokinetika deksmedetomidina.....	39
4.1.2	Odziv obtočil in dihanja na aplikacijo deksmedetomidina	43
4.1.3	Koncentracija kortizola in glukoze v krvi	50
4.1.4	Ocena sedacije in obnašanja.....	53
4.1.5	Ocena bolečine v ustni votlini	56
4.2	Drugi del raziskave	56
4.2.1	Farmakokinetika levobupivakaina	56
5	RAZPRAVA	59
6	SKLEPI	66
7	POVZETEK	67
8	SUMMARY	69
9	ZAHVALE.....	72
10	LITERATURA.....	73
11	PRILOGE	89
11.1	Priloga 1: Validirana numerična lestvica za ocenjevanje sedacije	89
11.2	Priloga 2: Validirana numerična lestvica za ocenjevanje obnašanja	91
11.3	Priloga 3: Validirana sestavljena numerična lestvica za ocenjevanje bolečine (za lastnika)	93
11.4	Priloga 4: Validirana sestavljena numerična lestvica za ocenjevanje bolečine (za veterinarja).....	94

KAZALO SLIK

Slika 1: Zasnova raziskave.	30
Figure 1: Study design.....	30
Slika 2: Časovnica dogodkov.	32
Figure 2: Timeline of events.	32
Slika 3: Koncentracija DEX v krvi v odvisnosti od časa po enkratni IV aplikaciji 0,5 µg/kg. 40	
Figure 3: Concentration-versus-time profile of a single 0.5 µg/kg IV dose of DEX.....	40
Slika 4: Koncentracija DEX v odvisnosti od časa po enkratni perinevralni aplikaciji 0,5 µg/kg (IO blok).	41
Figure 4: Concentration-versus-time profile of a single 0.5 µg/kg dose of DEX (IO block). .	41
Slika 5: Koncentracija DEX v odvisnosti od časa po enkratni perinevralni aplikaciji 0,5 µg/kg (IA blok).	42
Figure 5: Concentration-versus-time profile of a single 0.5 µg/kg dose of DEX (IA block). .	42
Slika 6: Frekvenca srca pred in po aplikaciji deksmedetomidina (DEX) in/ali placeba s časovnimi točkami (5, 10, 15, 20, 25 in 30 minut), ki predstavljajo vrednosti po končani intravenski (IV) aplikaciji DEX ali placeba.	45
Figure 6: Heart rate before and after administration of dexmedetomidine (DEX) and/or placebo with time points (5, 10, 15, 20, 25, and 30 min) presenting values after completion of IV application of DEX or placebo.	45
Slika 7: Srednji arterijski tlak pred in po aplikaciji deksmedetomidina (DEX) in/ali placeba s časovnimi točkami (5, 10, 15, 20, 25 in 30 minut), ki predstavljajo vrednosti po končani intravenski (IV) aplikaciji DEX ali placeba.	47
Figure 7: Mean arterial pressure before and after administration of dexmedetomidine (DEX) and/or placebo with time points (5, 10, 15, 20, 25, and 30 min) presenting values after completion of IV application of DEX or placebo.	47
Slika 8: : Frekvenca dihanja pred in po aplikaciji deksmedetomidina (DEX) in/ali placeba s časovnimi točkami (5, 10, 15, 20, 25 in 30 minut), ki predstavljajo vrednosti po končani intravenski aplikaciji DEX ali placeba.	49
Figure 8: Respiratory rate before and after administration of dexmedetomidine (DEX) and/or placebo with time points (5, 10, 15, 20, 25, and 30 min) presenting values after completion of IV application of DEX or placebo.....	49
Slika 9: Koncentracija kortizola v serumu (nmol/L) pred aplikacijo oralnih blokov in na koncu posega.	51

Figure 9: Serum cortisol concentration (nmol/L) before administration of oral blocks and at the end of the dental procedure.	51
Slika 10: Koncentracija glukoze v krvi (mmol/L) pred aplikacijo oralnih blokov in na koncu posega.....	52
Figure 10: Blood glucose concentration (mmol/L) before administration of oral blocks and at the end of the dental procedure.	52
Slika 11: Ocena stopnje sedacije pred posegom in vsako uro do šest ur po koncu anestezije. 54	
Figure 11: Sedation score recorded before anaesthesia and every hour after the end of the anaesthesia.....	54
Slika 12: Ocena obnašanja pred posegom, po ekstubaciji in vsako uro do šest ur po koncu anestezije.	55
Figure 12: Behaviour score recorded before anaesthesia, after extubation, and every hour after the end of the anaesthesia.....	55
Slika 13: Koncentracija 0,5 % levobupivakaina (LB) v krvi v odvisnosti od časa apliciranega perinevralno.....	58
Figure 13: Concentration-vs.-time profile of levobupivacaine (LB) 0.5% injected perineurally.	58

KAZALO TABEL

Tabela 1: Izračunani farmakokinetični parametri (povprečje $\pm$ SEM) po IV ($n = 10$), IO ($n = 10$) in IA ($n = 10$) aplikaciji DEX 0,5 $\mu\text{g/kg}$	43
Table 1: Calculated pharmacokinetic parameters (mean $\pm$ SEM) of dexmedetomidine 0.5 $\mu\text{g/kg}$ administered IV ($n = 10$), IO ($n = 10$) and IA ($n = 10$).	43
Tabela 2: Izračunani farmakokinetični parametri za levobupivakain.	57
Table 2: The calculated pharmacokinetic parameters of levobupivacaine.....	57

SEZNAM OKRAJŠAV

ACTH – adrenokortikotropni hormon

AUC – površina pod krivuljo

AP – akcijski potencial

ASA – angl. American Society of Anesthetists

Cl – očistek

C_{max} – najvišja plazemska koncentracija

CYP – naddružina citokromov P450

CYP1A2 – citokrom P450 1A2

CYP3A4 – citokrom P450 3A4

DEX – deksmedetomidin

EKG – elektrokardiogram

EPAR – angl. European Public Assessment Report

EtCO₂ – delni tlak CO₂ na koncu izdiha

FDA – angl. U.S. Food and Drug Administration (Uprava za hrano in zdravila Združenih držav Amerike)

GABA – γ -aminobutanojska kislina

GPCR – družina membranskih receptorjev gvanin nukleotid regulacijskih proteinov, sklopljenih z G-proteinom (angl. G protein-coupled receptors)

IA – inferiorni alveolarni

IM – intramuskularno

IO – infraorbitalni

IP – intraperitonealno

IV – intravensko

k_{el} – konstanta hitrosti eliminacije

LA – lokalni anestetik

LB – levobupivakain

LC-MS /MS – tekočinska kromatografija sklopljena s tandemsko masno spektrometrijo

LOD – meja detekcije

LOQ – meja kvantifikacije

MED – medetomidin

pK_a – disociacijska konstanta

PLC – placebo

PO – peroralno

SC – podkožno

SD – standardni odklon

SEM – standardna napaka

SPR – nastavek za trdno fazo (angl. Solid Phase Receptacle)

T_0 – najvišja plazemska koncentracija ekstrapolirana na čas aplikacije

$t_{1/2}$ – razpolovni čas

$T_{\max}$ – čas do najvišje plazemske koncentracije

V_D – volumen distribucije

ZDA – Združene države Amerike

1 UVOD

1.1 Predstavitev problematike

Sodobni anestezijski protokoli temeljijo na multimodalnem pristopu k preprečevanju bolečine, ki vključuje uporabo različnih vrst analgetikov pred, med in po kirurškem posegu. S perinevralno aplikacijo lokalnih anestetikov (LA) povzročimo reverzibilno področno inhibicijo prevodnosti senzoričnega dražljaja po živcu in s tem blokado prenosa bolečine v osrednje živčevje. Na ta način zmanjšamo odmerke injekcijskih in hlapnih anestetikov in s tem omejimo njihove neželene učinke, preprečimo hiperalgezijo in zmanjšamo porabo analgetikov v pooperacijskem obdobju ter zagotovimo hitrejše okrevanje živali po posegu (Pascoe, 2020). Področna anestezija tudi omeji stresni odgovor na anestezijo in kirurški poseg (Romano in sod., 2016).

Najpogostejši zapleti pri aplikaciji LA so poškodba živca, hematoma in neželena intravenska (IV) aplikacija. Zapletom se lahko izognemo z uporabo pravilnih tehnik aplikacije, izbiro ustrezne igle in aspiracijo pred aplikacijo LA (Pascoe, 2020). Do sistemske toksičnosti LA pride pri predoziranju ali pri nenamerni IV aplikaciji. Intoksikacija z LA pri zavestnih živalih se klinično najprej pokaže z znaki motenj v delovanju osrednjega živčevja, šele nato obtočil, saj je osrednje živčevje bolj dovzetno za njihove učinke. Te učinke je težje zaznati pri anestezirani živali (Leone in sod., 2008). Kontraindikacije za perinevralno uporabo LA so novotvorba, infekcija in hudo vnetje na mestu aplikacije (Castejón-González in sod., 2019).

Pri psih z obolenji zob in obzobnih tkiv se za omrtvičenje zgornje in spodnje čeljusti uporabljajo naslednji bloki: maksilarni, infraorbitalni (IO), veliki palatinalni, inferiorni alveolarni (IA) in srednji mentalni blok (Castejón-González in sod., 2019). V praksi se največkrat uporabljata IO in IA blok. Volumski odmerek LA pri IO bloku je $0,11 \text{ mL/kg}^{2/3}$, pri IA bloku pa $0,18 \text{ mL/kg}^{2/3}$ (Pascoe, 2020). Z aplikacijo LA v IO kanal zagotovimo področno anestezijo mehkih in trdih tkiv od prvega sekalca do prvega kočnika ipsilateralne strani zgornje čeljusti. Z aplikacijo LA v podsluznico ob vhodu v mandibularni kanal, kjer IA živec vstopa v spodnjo čeljust, pa zagotovimo področno anestezijo mehkih in trdih tkiv ipsilateralne strani spodnje čeljusti (Pascoe, 2020). Blok je učinkovit, kadar LA apliciramo v neposredno bližino živca in blokiramo vsaj 70 % transmembranskih natrijevih kanalov preko vsaj treh zaporednih Ranvierevih zažetkov (Pascoe in Chohan, 2020).

Za omrtvičenje čeljusti se pri psih s stomatološkimi obolenji najpogosteje uporabljajo lidokain, bupivakain in ropivakain, ki jih živali apliciramo po uvodu v splošno anestezijo (Alaman in sod.,

2021; Martinez-Taboada in sod., 2021; Cicirelli in sod., 2021). Omrtvičenje področja nastopi v približno 2 do 5 minutah po perinevralni aplikaciji lidokaina in 5 do 10 minut po aplikaciji bupivakaina, senzorni blok pa traja 2 do 3 ure pri lidokainu in 2 do 10 ur pri bupivakainu (Pascoe, 2020).

Levobupivakain (LB) je levosučna izomera bupivakaina in učinkuje podobno kot racemni bupivakain, vendar je manj kardiotoksičen (McLeod in Burke, 2001). Podatkov o uporabi LB za omrtvičenje čeljusti pri psih ni, objave so omejene le na racemni bupivakain. Prav tako ni podatkov o farmakokinetiki perinevralno apliciranega LB pri psih.

Podatki o kombiniranju agonistov adrenoceptorjev α_2 , kot je deksmedetomidin (DEX) z LA za perinevralno aplikacijo z namenom podaljšanja senzornega bloka, so pri živalih zelo skopi. Deksmetomidin je aktivna, desnosučna izomera racemnega medetomidina. Ima številne neželene učinke, ki so posledica aktivacije pre- in postsinaptičnih adrenergičnih receptorjev α_2 (Weerink in sod., 2017) in se največkrat kažejo kot spremembe v odzivu obtočil (Tisotti in sod., 2020). Podatkov o farmakokinetiki perinevralno apliciranega DEX pri psih ni.

1.2 Namen raziskave

Primarni namen raziskave je bil pridobiti vpogled v farmakokinetiko in odgovor obtočil na perinevralno aplikacijo DEX in LB, ki ju uporabljamo za področno anestezijo zgornje in spodnje čeljusti pri psih pri različnih stomatoloških posegih:

1. z določanjem najvišje plazemske koncentracije (C_{max}), časa do najvišje plazemske koncentracije (T_{max}) in površine pod krivuljo (AUC) DEX ter merjenjem arterijskega tlaka in frekvence srca smo želeli pojasniti morebitno razliko v odgovoru obtočil pri aplikaciji učinkovine v IO kanal oziroma v podsluznico v bližini vhoda v mandibularni kanal;
2. ugotoviti smo želeli, kakšne so vrednosti C_{max} , T_{max} in AUC LB v krvni plazmi pri omrtvičenju enega ali vseh štirih kvadrantov ustne votline in ali je celokupni odmerek LB za omrtvičenje vseh štirih kvadrantov ustne votline varen;
3. sekundarni namen raziskave je bil z merjenjem koncentracije kortizola in glukoze v krvi ter ocenjevanjem stopnje sedacije in obnašanja ugotoviti, ali DEX kot adjuvantni analgetik LB omeji odgovor organizma na perioperacijski stres in ali se odgovor organizma razlikuje glede na mesto aplikacije (IV ali perinevralna aplikacija).

1.3 Hipoteze

1. Lokacija aplikacije vpliva na absorpcijo DEX.

Predvidevamo, da bo zaradi pritiska pri aplikaciji v IO kanal prišlo do hitrejše in večje sistemske absorpcije DEX kot pri aplikaciji v podsluznico v bližini vhoda v mandibularni kanal.

2. Sprememba frekvenca srca in arterijskega tlaka je odvisna od lokacije aplikacije DEX.

Predvidevamo, da se bo po aplikaciji DEX arterijski tlak bolj in prej zvečal, frekvenca srca pa bolj in prej zmanjšala pri IO bloku kot pri IA bloku.

3. Lokacija aplikacije vpliva na absorpcijo LB.

Podobno kot pri DEX, tudi pri LB predvidevamo, da bo pri aplikaciji v IO kanal prišlo do hitrejše in večje sistemske absorpcije kot pri aplikaciji v podsluznico v bližini vhoda v mandibularni kanal.

4. Deksmetomidin omeji stresni odgovor organizma.

Predvidevamo, da bo DEX kot adjuvantni analgetik omejil odgovor organizma na stres zaradi anestezije in stomatološkega posega, kar naj bi se odrazilo z manj izrazitim povečanjem koncentracije kortizola in glukoze v krvi pri psih, pri katerih bomo uporabili DEX. Predvidevamo, da se stresni odgovor ne bo razlikoval glede na mesto aplikacije DEX (perinevralna ali IV).

5. Področna anestezija pripomore k hitrejšemu okrevanju in izboljšanju kvalitete življenja po stomatološkemu posegu.

Glede na predhodne rezultate zdravljenja in komunikacijo z lastniki predvidevamo, da bodo lastniki večinoma potrdili hitro okrevanje in izboljšanje kvalitete življenja psov po stomatološkem posegu, ki ga bomo izvedli v splošni anesteziji v kombinaciji s področno anestezijo.

2 PREGLED LITERATURE

1.4 Lokalni anestetiki

1.4.1 Mehanizem delovanja lokalnih anestetikov

Lokalni anestetiki blokirajo prevodnost živcev tako, da se reverzibilno vežejo na α podenoto napetostno odvisnih natrijevih kanalov v membrani živčnih celic. Da se to zgodi, se mora LA razširiti po celotni lipoproteinski membrani. Ob aplikaciji LA je ta v raztopini z nizkim pH, ki skrbi, da je večina učinkovine v ionizirani, topni obliki. V tkivu ta preide v nevtralno, neionizirano obliko in vstopi v živčno celico. Obseg spremembe v neionizirano obliko je odvisen od pKa LA in pH tkiva (običajno 7,4). Ko je LA enkrat v celici, ga nižji znotrajcelični pH spet spremeni v ionizirano obliko in v taki obliki blokira natrijeve kanale. Vstop natrija se zmanjša in naraščanje membranskega potenciala se upočasni. Ko je blokiranih dovolj natrijevih kanalov, prag za nastanek akcijskega potenciala (AP) ni dosežen in prevodnost električnih impulzov se ustavi. Mirovni membranski potencial in meja, kjer pride do depolarizacije membranskega potenciala, pa ostaneta enaka (McLure in Rubin, 2005).

Lokalni anestetik blokira tudi kalijeve in kalcijeve kanale ter receptorje sklopljene z G-proteinom. Kakšna bo stopnja samega živčnega bloka, je odvisno od premera živčnega vlakna. Tako je za blokado nastanka AP v živčnih vlaknih večjega premera (za zaznavo dotika, pritiska in motorične funkcije) potrebna večja koncentracija LA kot pri tistih z manjšim premerom (za zaznavo bolečine). Zato pri bloku najprej pride do izgube zaznave bolečine, nato pa ji v vrstnem redu sledijo še izguba zaznave temperature, dotika, globinske zaznave in na koncu še motorične funkcije (McLure in Rubin, 2005).

Afiniteta LA do posameznih natrijevih kanalov je odvisna od konformacijskega stanja kanala, saj je od tega odvisno, ali so receptorska mesta za LA dostopna ali ne. Najvišja stopnja afinitete je, ko je kanal odprt, in najmanjša, ko je zaprt. Afiniteta pa je odvisna tudi od vrste LA. Tako se na primer lidokain hitro veže na receptorje v kanalih, vendar se z njih tudi hitro sprostí. Za razliko od njega se bupivakain, ki se tudi veže hitro, zelo počasi odstrani z receptorjev (McLure in Rubin, 2005). Razlika je tudi med posameznimi enantiomerami bupivakaina, saj se desnosučna odstrani počasneje kot levosučna (Vanhoutte in sod., 1991). To je pomembno predvsem z vidika kardiotoksičnosti, saj je pri tistih LA, ki se odstranjujejo počasi, večja možnost, da pride do nastanka življenjsko ogrožajočih aritmij (Clarkson in Hondeghem, 1985).

1.4.2 Bupivakain in levobupivakain

Začetki lokalne anestezije segajo v leto 1884, ko je Carl Koller pri poskusu na sebi ugotovil, da ob aplikaciji kokaina na očesno veznico oko postane neobčutljivo na dotik in bolečino (McLure in Rubin, 2005). Zaradi številnih neželenih učinkov kokaina so začeli iskati nove LA z manj neželenimi učinki in s čim daljšim časom delovanja. Dobrih osemdeset let kasneje, leta 1963, so odkrili bupivakain, prvi dolgo delujoči lokalni anestetik, s katerim so naredili zelo pomemben korak v razvoju področne anestezije (Ruetsch in sod., 2001).

Kmalu so ugotovili, da ima bupivakain vrsto neželenih učinkov. Zato so po letu 1980 začeli iskati nov dolgo delujoči LA. Ugotovili so, da racemični bupivakain sestavljata dve optično aktivni enantiomeri, desnosučna R in levosučna S. Po *in vivo* študijah obeh enantiomer med letoma 1991 in 1996 so ugotovili, da ima S enantiomera mnogo manj neželenih učinkov na osrednje živčevje in srce kot R enantiomera ali racemični bupivakain. Poimenovali so jo levobupivakain (Ruetsch in sod., 2001).

Vsi LA imajo lipofilni aromatski obroč, ki je povezan s hidrofilno aaminsko skupino, veriga, ki ju povezuje, pa je lahko sestavljena iz estra ali amida (Becker in Reed, 2012). Levobupivakain spada v skupino amidnih LA. Je zelo dobro topen v maščobi in ima visok pKa (8,1). Ker je dobro topen v maščobi, lažje vstopa skozi celično membrano živčnih celic in zato je potrebnih manj molekul, da dosežemo želeni učinek (Leone in sod., 2008). Pri ljudeh se ga 95 % veže na plazemske beljakovine (albumin in α_1 -glikoprotein). Velika večina se ga presnovi z biotransformacijo v jetrih s pomočjo naddružine citokromov P450 (CYP), predvsem z oblikama CYP1A2 in CYP3A4, izloči pa se večinoma v obliki neaktivnih presnovkov z urinom (71 %) in blatom (24 %) (Foster in Markham, 2000).

1.4.3 Farmakokinetika levobupivakaina

Podatki o farmakokinetiki levobupivakaina pri živalih so skopi. Vezani so na eksperimentalne živali in IV, intraperitonealni (IP) in podkožni (SC) način aplikacije. Pri podganah, ki so bile anestezirane s sevofluranom v zraku in so prejele 5 mg/kg LB IP, SC ali IV je bila C_{max} (mediana (razpon vrednosti, interkvartilni razmik)) 0,45 (0,05–0,67, 0,15), 0,47 (0,21–0,62, 0,29) in 7,21 (6,71–22,6, 6,78) $\mu\text{g/mL}$, T_{max} po IP in SC aplikaciji sta bila 2 (2–5) in 5 (2–10, 2,75) min in $AUC_{(0 \rightarrow 120\text{min})}$ 0,29 (0,10–0,54, 0,23), 0,78 (0,39–0,98, 0,48) in 4,36 (1,41–9,48, 1,63) mg h/L. Razpolovni čas pri IP in IV aplikaciji je bil 1,69 (0,41–9,68, 1,20) in 0,83 (0,67–3,97, 0,78) h.

Pri odmerku 2,5 mg/kg LB IP ali SC je bila $C_{\max}$ 0,12 (0,07–0,31, 0,10) in 0,17 (0,14–0,21, 0,15) $\mu\text{g/mL}$, $T_{\max}$ je bil 5 (2–5, 3,5) in 60 (30–120, 60) min in $\text{AUC}_{(0 \rightarrow 120\text{min})}$ 0,14 (0,09–0,26, 0,11) in 0,27 (0,16–0,38, 0,19) mg h/L. Razpolovni čas pri IP aplikaciji je bil 2,00 (1,01–2,64, 1,43) h (Miyoshi in sod., 2021).

Toksikokinetične raziskave IV aplikacije LB so bile izvedene pri podganah, ovcah, psih in prašičih. Pri podganah, anesteziranih z izofluranom v kisiku, je bila plazemska koncentracija LB ob pojavu epileptičnega napada, prve aritmije in asistole (povprečje $\pm$ standardni odklon) $10,0 \pm 1,1$, $21,2 \pm 1,8$ in $36,2 \pm 6,5$ $\mu\text{g/mL}$ (Ohmura in sod., 2001). Ko so neanesteziranim ovcam aplicirali LB IV v 3 minutah, je bila koncentracija LB v arterijski krvi ob pojavu epileptičnih napadov (povprečje $\pm$ standardni odklon) $16,3 \pm 4,0$ $\mu\text{g/mL}$ (Chang in sod., 2000). Pri anesteziranih psih je bil skupni odmerek LB, pri katerem je prišlo do kardiovaskularnega kolapsa (povprečje $\pm$ standardna napaka), $27,3 \pm 2,0$ mg/kg, plazemska koncentracija pa je bila 22,7 $\mu\text{g/mL}$ (Groban in sod., 2001).

Pri prašičih, anesteziranih z izofluranom v kisiku, so po IV aplikaciji LB v odmerku 3 mg/kg, ugotavljali uspešnost zdravljenja intoksikacije z IV aplikacijo lipidne emulzije. Kontrolni skupini prašičev so namesto le-te IV aplicirali Ringerjev acetat. Pri testni in kontrolni skupini prašičev so bili $C_{\max}$ (povprečje $\pm$ standardni odklon (razpon vrednosti)) $35,3 \pm 4,6$ (29,0–43,2) in $36,3 \pm 11,7$ (27,6–41,2) mg/L, $t_{1/2}$ $52,2 \pm 10,8$ in $57,4 \pm 9,4$ min ter $\text{AUC}_{(0 \rightarrow 60\text{min})}$ $384,4 \pm 92,6$ in $346,5 \pm 59,7$ mg min/L (Heinonen in sod., 2016).

Farmakokinetika perinevralno apliciranega LB za omrtvičenje ustne votline je opisana le pri ljudeh (Fawcett in sod., 2002). Bolnikom so ob spodnji in zgornji tretji kočnik aplicirali 0,5 % racemni bupivakain ali 0,5 % LB v skupnem odmerku 6,6 mL, kar znaša približno 0,5 mg/kg. Pri desnosučni izomeri racemnega bupivakaina je bila $C_{\max}$ (povprečje $\pm$ standardna napaka) 194 ± 68 ng/mL, $T_{\max}$ 21 ± 3 min, očistek (Cl) 564 ± 210 mL/min in AUC 545 ± 193 ng h/mL. Pri levosučni izomeri racemnega bupivakaina je bila $C_{\max}$ 231 ± 75 ng/mL, $T_{\max}$ $14,5 \pm 6,8$ min, Cl 463 ± 201 mL/min in AUC 692 ± 286 ng h/mL. Pri LB pa je bila $C_{\max}$ 578 ± 101 ng/mL, $T_{\max}$ 21 ± 3 min, Cl 465 ± 178 mL/min in AUC 1371 ± 442 ng h/mL.

1.5 Agonisti adrenergičnih receptorjev α_2

1.5.1 Adrenergični receptorji

Adrenergični receptorji sodijo v veliko družino membranskih receptorjev gvanin nukleotid regulacijskih proteinov, sklopljenih z G-proteinom (GPCR), ki so sestavljeni iz sedmih

transmembranskih vijačnic. Z vezavo nevrottransmitorjev, hormonov in zdravil na GPCR le-ti sodelujejo pri celičnem odzivu nanje (Badino in sod., 2005). Adrenergične receptorje so najprej razdelili na α in β receptorje (Ahlquist, 1948), nato pa so jih glede na farmakološke lastnosti razdelili še na α_1 in α_2 ter β_1 , β_2 in β_3 receptorje (Lands in sod., 1967).

Gladke mišične celice v žilah se po aktivaciji α_1 receptorjev skrčijo, česar posledica je vazokonstrikcija. Aktivacija teh receptorjev povzroči tudi krčenje radialnih mišic v očesu in krčenje gladkih mišic v semenovodu. Naloga α_2 receptorjev je zaviranje sproščanja noradrenalina iz presinaptičnih nevronov, centralno inducirana sedacija preko *locusa coeruleus* (center za sintezo noradrenalina v mostu, ki je odgovoren za vzburjenje in pozornost), sprememba zaznave bolečinskega signala prek dorzalnega roga hrbtenjače in zaviranje sproščanja inzulina iz β celic trebušne slinavke. Aktivacija β_1 receptorjev poveča minutni volumen srca, β_2 receptorji pa so odgovorni za sproščanje gladkih mišic bronhijev (bronhodilatacija). Aktivacija β_3 receptorjev poveča lipolizo v maščobnem tkivu (Giovannitti in sod., 2015).

1.5.2 Adrenergični receptorji α

Klasifikacijo na α_1 in α_2 so najprej osnovali na podlagi anatomske lokacije receptorjev. Tako so postsinaptični receptorji, ki prenašajo odgovor v tarčni organ, postali α_1 , presinaptični, ki regulirajo sproščanje noradrenalina, pa so postali α_2 . Pozneje so ugotovili, da so za zaviranje glikolize in lipolize odgovorni postsinaptični adrenergični receptorji α_2 , in tako prišli do spoznanja, da je klasifikacija boljša na osnovi funkcije posameznih adrenergičnih receptorjev. Ugotovili so, da so α_1 odgovorni za prenos odgovorov vzdraženja, α_2 pa za prenos zaviralnih odgovorov ne glede na njihovo anatomsko lokacijo (Badino in sod., 2005).

Drew in Whiting (1979) sta ugotovila, da so tudi adrenergični receptorji α_2 sposobni prenosa odgovorov vzdraženja. Farmacevtska industrija je razvila prve selektivne agoniste in antagoniste adrenergičnih receptorjev α_2 in končno so klasifikacijo na osnovi funkcije spremenili glede na farmakološko afiniteto posameznega liganda za določen podtip adrenergičnega receptorja α (Civantos Calzada in De Artinano, 2001).

Adrenergične receptorje α_1 so razdelili na podtip A, B in D (Docherty, 1998; Zhong in Minneman, 1999). Podtip A je odgovoren za vzdrževanje tonusa žil in arterijskega krvnega tlaka (Civantos Calzada in De Artinano, 2001). Podtip B je vključen v vzdrževanje krvnega tlaka in homeostazo glukoze (Cotecchia in sod., 2002). Podtip D pa je odgovoren za krčenje

gladkih mišic žil (Daniel in sod., 1999; Yang in Chiba, 2001; Kwan, 1999) in za regulacijo toka K^+ ionov v kardiomiocitih prekatov (Wang in sod., 2001).

Nekaj časa so mislili, da obstajata le A in B podtipa adrenergičnih receptorjev α_2 (Timmermans in Van Zwieten, 1982; Bylund, 1985). Nato pa sta Murphy in Bylund (1988) odkrila še podtip C. Adrenergični receptorji α_2 so odgovorni za krčenje žil (vazokonstrikcijo). So del zaviralne presinaptične zanke, ki regulira sproščanje nevrotransmiterjev iz adrenergičnih nevronov, odgovorni so za sedativne in hipnotične učinke, sodelujejo pa tudi pri kontroli zaznavanja bolečine in kontroli obnašanja (Philipp in sod., 2002). Sama razdelitev posameznih podtipov v venah in arterijah se razlikuje glede na živalsko vrsto (Civantos Calzada in De Artinano, 2001). Stimulacija adrenergičnih receptorjev α_2 povzroči dvofazno spremembo krvnega tlaka. Začne se s kratko fazo, ko se tlak zviša (α_{2B}), in dolgo trajajočo fazo, ko se tlak zniža (α_{2A}) (Badino in sod., 2005). Vsi trije podtipi adrenergičnih receptorjev α_2 so odgovorni za analgetične učinke agonistov adrenergičnih receptorjev α_2 , medtem ko so za hipnotične učinke odgovorni le α_{2A} receptorji v nevronih *locusa coeruleusa* (Wang in sod., 1996; Schwartz in sod., 1999). Receptorji α_{2C} sodelujejo pri spremembah v obnašanju in spominu (Bjorklund in sod., 1999; Scheinin in sod., 2001), α_{2A} pa izboljšujejo delovni spomin s povečanjem krvnega pretoka v možganski skorji (Avery in sod., 2000).

1.5.3 Deksmedetomidin

Deksmedetomidin spada med agoniste adrenergičnih receptorjev α_2 in je desnosučna enantiomera racemne zmesi, imenovane medetomidin. Med vsemi agonisti adrenergičnih receptorjev α_2 je DEX najbolj selektiven, razmerje med vezavo na α_2 in α_1 receptorje pa je 1620:1 v prid prvih (Virtanen in sod., 1988). Zaradi dobrih sedativnih in analgetičnih lastnosti je nepogrešljivo zdravilo v sodobni veterinarski praksi (Simon in sod., 2018; DeGroot in sod., 2020). Uporabljamo ga lahko na različne načine: 1) kot pred- in pooperacijsko pomirjevalo, 2) kot analgetik, največkrat v kombinaciji z lokalnimi anestetiki ali opioidi, 3) kot pomirjevalo in analgetik za krajše, ambulantne posege in 4) kot sredstvo za premedikacijo, s katerim zmanjšamo odmerke intravenskih in inhalacijskih anestetikov (Rankin, 2015). Odmerek pri psu znaša 2–20 $\mu\text{g/kg}$ IV ali intramuskularno (IM) (Bednarski, 2015).

Deksmedetomidin se kot adjuvantni analgetik lahko aplicira perinevralno skupaj z LA z namenom podaljšanja senzornega bloka. Campoy in Read (2013) navajata, da kombinacija

0,5 % LB in DEX (0,5 µg/mL) pri psih zagotavlja 12 do 28 ur senzornega bloka brahialnega pleteža.

Pri podganah je perinevralna aplikacija DEX 0,5, 2 in 20 µg/kg (Brummett in sod., 2009) oziroma 6 µg/kg (Brummett in sod., 2011) podaljšala senzorni blok ishiadičnega živca z ropivakainom, trajanje pa je bilo odvisno od odmerka.

1.5.4 Mehanizem delovanja deksmedetomidina

Adrenergične receptorje α_2 najdemo v večini organov, vendar so za mnogo učinkov DEX odgovorna receptorska mesta v možganih in hrbtenjači. V osrednjem živčevju najdemo večino receptorskih mest, ki so odgovorna za prenos simpatične aktivnosti naprej do živcev, v mostu in podaljšani hrbtenjači (Nguyen in sod., 2017).

Tako kot ostali agonisti adrenergičnih receptorjev α_2 tudi DEX zavre aktivnost adenilat-ciklaze, kar zmanjša količino cAMP in povzroči hiperpolarizacijo membrane nevronov v mediodorzalnem delu mosta (Pichot in sod., 2012). Ker je količina cAMP manjša, pride do sekvestracije kalcijevih ionov, kar zavre komunikacijo med nevroni in nevrotransmitterji, zato se zmanjša sproščanje noradrenalina. Učinki, za katere je odgovoren DEX na presinaptični strani, so vezani na zmanjšano sproščanje noradrenalina in s tem zmanjšano aktivnost avtonomnega živčevja (Carollo in sod., 2008). Tako v *locusu coeruleusu* z zaviranjem sproščanja noradrenalina poskrbi za sedacijo in hipnotične učinke (Gertler in sod., 2001).

Ker DEX ne deluje preko GABA signalne poti, se kljub globoki sedaciji pri večjih odmerkih frekvenca dihanja ne zmanjša bistveno (Venn in sod., 2000).

Prav tako lahko signalne poti za noradrenalin, ki so v podaljšani hrbtenjači in hrbtenjači in izvirajo iz *locusa coeruleusa* ter so odgovorne za zaznavo bolečine, zavremo preko negativne povratne zanke z zaviranjem sproščanja noradrenalina, s tem pa zavremo tudi prenos bolečinskega signala. V rostralnem ventrolateralnem delu podaljšane hrbtenjače se nahaja tudi vazomotorični center, ki kontrolira simpatično aktivnost, preko katere pride do sprememb v odzivu obtočil. Tako DEX zavira aktivnost presinaptičnih nevronske signalnih poti, skupaj z aktivacijo parasimpatičnih nevronov v delu, imenovanem *nucleus ambiguus*, kar vodi do neželenih učinkov, kot sta bradikardija in hipertenzija (Nguyen in sod., 2017).

V dorzalnem rogu hrbtenjače z zaviranjem sproščanja nevrottransmiterjev, kot sta npr. substanca P in glutamat, DEX povzroči zmanjšanje števila ascendentnih signalnih poti, ki so odgovorne za prenos bolečinskih signalov; rezultat tega so analgetični učinki (Ishii in sod., 2008).

1.5.5 Neželeni učinki deksmedetomidina

Pri psih so neželeni DEX učinki odvisni od odmerka, najpogostejše pa so spremembe v odzivu obtočil, kot sta hipertenzija in bradikardija (Tisotti in sod., 2020). Ti učinki so poleg odmerka odvisni tudi od mnogo drugih dejavnikov, saj do njih pride tako prek centralnih kot tudi perifernih mehanizmov in niso rezultat neposrednega zavora krčljivosti miokarda (Nguyen in sod., 2017). V nižjih odmerkih DEX zmanjša sproščanje noradrenalina in s tem zmanjša delovanje simpatičnega živčevja. Dodatno pa prek dorzalnega motoričnega nevrona *nervusa vagusa* poveča vpliv parasimpatičnega živčevja na aktivnost srca. Po drugi strani pa višji odmerki DEX povzročijo prehodno hipertenzijo preko neposredne stimulacije perifernih adrenergičnih receptorjev α_1 in α_2 v gladkih mišičnih celicah krvnih žil, čemur sledi refleksna bradikardija in zmanjšan minutni volumen srca (Ebert in sod., 2000). Pri IV odmerku 0,5 $\mu\text{g/kg}$, apliciranem v 6 minutah, ki mu je sledila aplikacija v obliki kontinuirane infuzije v odmerku 0,5 $\mu\text{g/kg/h}$, je DEX pri psih, anesteziranih z izofluranom, povzročil zmanjšanje frekvence srca in minutnega volumna srca, vendar še vedno v okviru klinično sprejemljivih vrednosti (Pascoe, 2014).

Neželeni učinek je tudi bruhanje, do katerega pride zaradi vzdraženja receptorjev v kemoreceptorskem območju podaljšane hrbtenjače, preko katerega se vzdraži center za bruhanje (Cullen, 1996).

1.5.6 Farmakokinetika deksmedetomidina

Deksmedetomidin je lipofilna molekula in se v 94 % veže na plazemske beljakovine (albumin in α_1 -glikoprotein). Pri ljudeh se v 99 % presnovi z biotransformacijo v jetrih, organizem pa ga izloči kot neaktivne presnovke z urinom (95 %) in blatom (4 %) (FDA Precedex label, 2022; EPAR, 2022).

Podatkov o farmakokinetiki perinevralno apliciranega DEX pri psih ni, znana je le farmakokinetika DEX po IV in intramuskularni (IM) aplikaciji. Po enkratni IV aplikaciji 20 $\mu\text{g/kg}$ je bil volumen porazdelitve (V_D) (povprečje $\pm$ standardni odklon) $0,86 \pm 0,22$ L/kg,

razpolovni čas ($t_{1/2}$) je bil $0,78 \pm 0,23$ h in Cl $1,24 \pm 0,48$ L/kg/h. Po IV aplikaciji $10 \mu\text{g/kg}$ pa je bil V_D $0,79 \pm 0,19$ L/kg, $t_{1/2}$ je bil $0,66 \pm 0,18$ h, Cl pa $0,97 \pm 0,33$ L/kg/h (Kuusela in sod., 2000). Po IV aplikaciji $5 \mu\text{g/kg}$ je bila koncentracija DEX v plazmi takoj po aplikaciji (povprečje $\pm$ standardni odklon) $18,6 \pm 3,3$ ng/mL, $t_{1/2}$ pri IV aplikaciji pa je bil 36 ± 6 min. Čas po aplikaciji, ko so še uspeli zaznati DEX v plazmi, je bil pri IV aplikaciji 110 ± 15 min. Očistek je bil $8,0 \pm 1,6$ mL/min/kg, V_D pa 371 ± 72 mL/kg (Dent in sod., 2019).

Po IM aplikaciji $10 \mu\text{g/kg}$ DEX je bil $C_{\max}$ (povprečje (razpon vrednosti)) $109,2$ ($22,4$ – $211,5$) ng/mL, $T_{\max}$ pa je bil $20,5$ ($5,0$ – $75,0$) min. Razpolovni čas pri IM aplikaciji je bil $25,5$ ($11,5$ – $41,5$) min. Čas po aplikaciji, ko so še uspeli zaznati DEX v plazmi, je bil pri IM aplikaciji 220 (120 – 240) min (Arnes in sod., 2023).

1.6 Področna anestezija

Zagotavljanje učinkovite analgezije je ključna sestavina oskrbe pacientov, pri katerih pričakujemo, da se bo razvila bolečina (Lascelles in Kirkby, 2016). Pri tem igrajo pomembno vlogo LA, pri katerih, za razliko od ostalih analgetikov (sistemski učinek), dosežemo želeni učinek z uporabo lokalnih in področnih tehnik (Grubb in Lobprise, 2020). Smernice za obvladovanje bolečine pri kirurških posegih in travmah v veterinarski medicini priporočajo uporabo LA, ki omejijo tako medoperacijsko kot pooperacijsko bolečino (Epstein in sod., 2015; Mathews in sod., 2014).

Za razliko od opioidov, ki modulirajo bolečinske impulze, ko ti že pridejo do osrednjega živčevja, LA preprečijo, da bi ti impulzi sploh prišli do njega (Grubb in Lobprise, 2020). Ljudje so po operaciji roke izkazovali manjšo pooperacijsko bolečino (nižja ocena z lestvico za ocenjevanje bolečine) in manjšo potrebo po dodatnih analgetikih, kadar so prejeli področno anestezijo z LA, v primerjavi s tistimi, pri katerih so sistemsko uporabili opioide (Rodríguez in sod., 2018). Do podobnih rezultatov so prišli pri psih po torakotomiji (Conzemius in sod., 1994).

Pri mačkah in psih, pri katerih so uporabili področno anestezijo za omrtvičenje ustne votline, se je zmanjšala potreba po hlapnih anestetikih (Aguiar in sod., 2015) in s tem njihovi odmerka odvisni neželeni učinki na obtočila (Snyder in Snyder, 2013). Mačke in psi, pri katerih so opravili ovariohisterektomijo, kastracijo, enukleacijo ali laparatomijo, so pri vključitvi področne anestezije v anestezijski protokol potrebovali tudi manj medoperacijskih in

pooperacijskih analgetikov, vključno z opiodi (Benito in sod., 2016; Perez in sod., 2013; Myrna in sod., 2010; Savvas in sod., 2008), kar je zmanjšalo pojav neželenih učinkov, kot so disforija, slabost in bruhanje. Lokalni anestetiki tudi preprečujejo nastanek hiperalgezije in kronične pooperacijske bolečine pri ljudeh (Boerboom in sod., 2018; Rashid in Dick, 2014; de Brito in sod., 2012).

1.6.1 Infraorbitalni blok

Infraorbitalni živec je veja maksilarnega živca, ki oživčuje zobe in dlesen zgornje čeljusti. Živec izstopa iz IO odprtine, ki se nahaja nad distalno korenino tretjega premolarja zgornje čeljusti. Infraorbitalno odprtino zlahka zatipamo preko sluznice kot jasno, navpično usmerjeno in okroglo vdolbino v kosti zgornje čeljusti (Pascoe, 2020).

Če želimo omrtvičiti celo zgornjo čeljust, moramo omrtvičiti levi in desni IO živec. Žival med aplikacijo leži na boku ali na hrbtu. Z iglo vstopimo v IO odprtino in jo vodimo kavalno tako, da je igla vzporedno z zgornjo čeljustjo. Dolžino igle moramo vedno prilagoditi dolžini IO kanala. To naredimo tako, da zatipamo stik med zgornjo čeljustjo in ličnico, kar je orientacijska točka za konec IO kanala. Pri mačkah in psih kratkogobčnih pasem je kanal dolg le nekaj milimetrov, medtem ko je pri ostalih psih kanal dolg 20 do 30 milimetrov.

Ko smo prepričani, da je igla na pravem mestu, aspiriramo in nato LA apliciramo počasi v 20 do 30 sekundah. Ob aplikaciji ne smemo čutiti odpora, če pa je ta prisoten, moramo položaj igle nekoliko spremeniti in ponovno aspirirati, preden nadaljujemo z aplikacijo. Volumski odmerek LA za psa za IO blok je $0,11 \text{ mL/kg}^{2/3}$ (Pascoe, 2020).

1.6.2 Inferiorni alveolarni blok

Inferiorni alveolarni živec je veja mandibularnega živca in oživčuje trda in mehka tkiva telesa spodnje čeljusti (Pascoe, 2020). Če želimo omrtvičiti levo in desno stran spodnje čeljusti, moramo omrtvičiti levi in desni IA živec. Uporabimo lahko intraoralno ali ekstraoralno tehniko aplikacije, žival pa med aplikacijo praviloma leži na hrbtu.

Pri intraoralni tehniki v gobcu s kazalcem ene roke zatipamo IA živec, ki kot struna tanka struktura vstopa skozi mandibularno odprtino v mandibularni kanal na medialni strani spodnje čeljusti kavalno in ventralno od zadnjega molarja. Nato z drugo roko z iglo predremo sluznico,

ki prekriva spodnjo čeljust, rostralno od mandibularne odprtine in jo vodimo kavdalno, da se čimbolj približamo živcu. Ko smo prepričani, da smo na pravilnem mestu, aspiriramo in počasi apliciramo LA, obenem pa z drugo roko vlečemo jezik medialno, da se izognemo bloku lingvalnega živca. Volumski odmerek LA za psa za IA blok je $0,18 \text{ mL/kg}^{2/3}$ (Pascoe, 2020).

Pri ekstraoralni tehniki v gobcu s kazalcem ene roke zatipamo IA živec na vstopu v mandibularno odprtino enako kot pri intraoralni tehniki. Mandibularno odprtino lahko najdemo tudi tako, da si ekstraoralno zamislimo črto, ki poteka od zadnjega molarja do kota spodnje čeljusti. Mandibularna odprtina se nahaja pravokotno in ventralno od črte na polovici razdalje. Kožo na mestu vstopa igle najprej aseptično pripravimo. Iglo z zunanje strani spodnje čeljusti najprej vodimo pravokotno na ventralno površino spodnje čeljusti, nato pa jo usmerimo medialno proti mandibularni odprtini, čim bližje kosti. Ko zatipamo konico igle pod sluznico v neposredni bližini mandibularne odprtine in IA živca, aspiriramo in počasi apliciramo LA. Volumski odmerek LA je enak kot pri intraoralni tehniki (Pascoe, 2020).

1.6.3 Področna anestezija ustne votline psov z bupivakainom

Podatkov o uporabi LB za področno anestezijo ustne votline psov ni, znani so le za bupivakain in še ti so zelo omejeni. Pascoe in Chohan (2020) sta ugotovila, da 1, 2 ali 3 mL mešanice 2 % lidokaina in 0,5 % bupivakaina v razmerju 1:1, aplicirane v IO kanal pri psu, zagotovi omrtvičenje trdnih struktur ipsilateralne strani zgornje čeljusti, ki nastopi v 5 do 30 minutah in traja od 75 do 312 minut. Povečevanje volumna mešanice lokalnih anestetikov je minimalno vplivalo na učinkovitost in trajanje bloka. Pascoe (2016) je že v predhodni raziskavi ugotovil, da je 1 mL mešanice 2 % lidokaina in 0,5 % bupivakaina v razmerju 1:1, ki so jo aplicirali v IO kanal, pri psih v 5 do 10 minutah povzročil omrtvičenje, ki je za področje okoli grabilca ipsilateralne strani zgornje čeljusti trajalo 277 ± 43 minut, za področje okoli četrtega ličnika ipsilateralne strani zgornje čeljusti pa 253 ± 83 minut.

Po aplikaciji 0,5 % bupivakaina v odmerku $0,1 \text{ mL/kg}$ (ali $0,5 \text{ mg/kg}$) v IO kanal so imeli psi, pri katerih so opravili rinoskopijo z biopsijo nosne sluznice, značilno nižje vrednosti sistoličnega, srednjega in diastoličnega arterijskega tlaka v primerjavi s psi, ki so jim aplicirali volumsko enak odmerek 0,9 % fiziološke raztopine. Pri psih, ki so jim aplicirali 0,9 % fiziološko raztopino, je bila plazemska koncentracija kortizola značilno višja 5 minut po biopsiji v primerjavi z vrednostjo, ki so jo izmerili tik ob biopsiji. Koncentracija kortizola se ni povečala pri psih, ki so jim aplicirali 0,5 % bupivakain (Fizzano in sod., 2017).

1.7 Perioperacijski stres

Kirurški posegi lahko sprožijo nevrohormonalni stresni odziv pri živalih (Kehlet, 1989). Pri ljudeh ima perioperacijski stresni odziv negativen učinek na delovanje imunskega sistema, povečuje pooperacijsko dovzetnost za okužbe, povečuje tveganje za nastanek ishemične in reperfuzijske poškodbe ter sproži sistemski vnetni odziv (Anand in sod., 1990; Anand in Hickey, 1992).

Pri stresnem odzivu se aktivira os hipotalamus-hipofiza-nadledvična žleza, za katero je značilno sproščanje kateholaminov in glukokortikoidov (Gibbison in sod., 2013; Miller in sod., 2016). Antidiuretični hormon, ki ga sprošča hipotalamus, stimulira anteriorni del hipofize, da prične sproščati adrenokortikotropni hormon (ACTH) v sistemski krvni obtok. Adrenokortikotropni hormon nato deluje na skorjo nadledvične žleze, da ta prične sintetizirati glukokortikoide, od katerih je najpomembnejši kortizol (Herman in sod., 2016).

Kirurški posegi lahko vodijo tudi do hipermetaboličnega stresnega odziva, za katerega je značilna hiperglikemija in rezistenca na inzulin. Ta vrsta odziva se imenuje "stresna hiperglikemija" in vključuje povečano proizvodnjo glukoze, medtem ko je periferni privzem z inzulinom stimulirane glukoze zmanjšan (Duncan, 2012). Pri ljudeh je hiperglikemija povezana z znatnim povečanjem bolnišnične morbidnosti in mortalnosti pri kirurških in kritično bolnih pacientih (Kransley, 2003; Ouattara in sod., 2005).

Agonisti adrenergičnih receptorjev α_2 neposredno zavirajo nevroendokrini stresni odziv, kar s pridom izkoriščamo v pred- in medoperacijskem obdobju (Maze in Tranquilli, 1991). Predoperacijska aplikacija medetomidina (MED) v odmerku 15 $\mu\text{g/kg}$ IM je preprečila sproščanje kateholaminov in za nekaj časa odložila sproščanje ACTH in kortizola pri psih, anesteziranih z izofluranom, pri katerih so izvedli ovariohisterektomijo (Benson in sod., 2000). Pri enakem posegu je medetomidin v odmerku 40 $\mu\text{g/kg}$ IM preprečil zvišanje koncentracije kortizola v plazmi do 60 minut po ekstubaciji (Ko in sod., 2000). Prav tako se je koncentracija kortizola v plazmi značilno znižala pri psih, pri katerih je bil opravljen ACTH stimulacijski test in so prejeli 80 $\mu\text{g/kg}$ IM DEX v primerjavi s kontrolno skupino psov, ki je po ACTH stimulacijskem testu prejela le fiziološko raztopino (Maze in sod., 1991).

Medetomidin, apliciran v odmerku od 10 do 80 $\mu\text{g/kg}$ IM, je glede na odmere zavrl sproščanje noradrenalina in adrenalina pri psih. Koncentracija kortizola v plazmi se ni spremenila, medtem

ko se je koncentracija glukoze v krvi povečala, vendar ne v odvisnosti od odmerka (Ambrisko in Hikasa, 2002).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 Zasnova raziskave

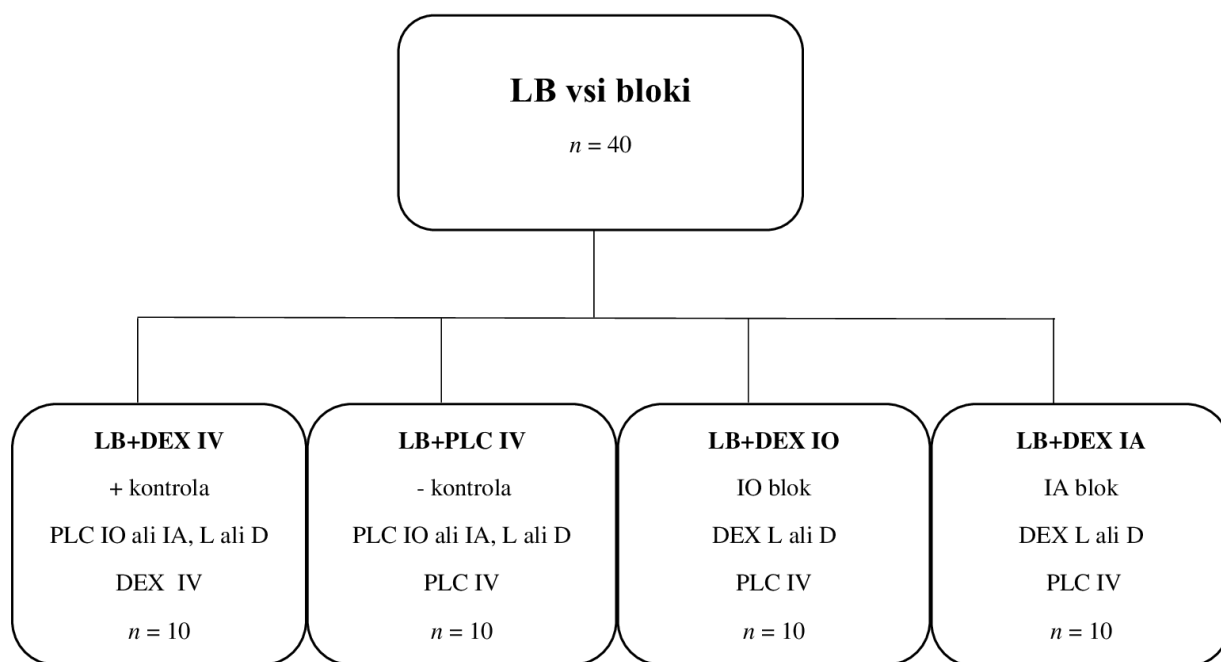
Raziskavo smo izvedli na Kliniki za male živali Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani. V raziskavo smo vključili 60 lastniških psov, pri katerih smo zaradi različnih obolenj zob in obzobnih tkiv opravili stomatološki poseg v splošni anesteziji. Pred vključitvijo v raziskavo smo lastnike seznani z morebitnimi tveganji posega in od njih pridobili pisno soglasje za sodelovanje živali v raziskavi. Raziskavo je odobrila Komisija za dobrobit živali Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani 7. 1. 2021, odločba št. 8-10-2020/7.

V prvi del raziskave smo vključili 40 psov s telesno maso najmanj 10 kg, starih najmanj 6 mesecev in največ 13 let, ki so bili glede na zdravstveno stanje in anestezijsko tveganje uvrščeni v ASA (American Society of Anesthetists) kategorijo I (popolnoma zdravi psi) ali II (psi z blago sistemsko boleznijo, brez kliničnih znakov). V raziskavo nismo vključili psov kratkogobčnih pasem ter psov z endokrinološkimi obolenji, boleznimi obtočil, jeter in ledvic, ter psov, ki so jemali zdravila za zniževanje krvnega tlaka, kortikosteroide ali nesteroidne analgetike.

Moč študije smo izračunali s pomočjo programa G*Power (Univerza Heinricha Heineja, Nemčija) na osnovi rezultatov pilotne študije, kjer je bila frekvenca srca pri psih, ki smo jim aplicirali LB za omrtvičenje vseh štirih kvadrantov ustne votline, 80 ± 10 utripov/minuto (povprečje $\pm$ standardni odklon). Po dodatku DEX v odmerku $0,5 \mu\text{g/kg}$ se je frekvenca srca zmanjšala do 30 % po IV aplikaciji in do 20 % po perinevralni aplikaciji (IO ali IA blok). Izračunali smo, da je pri napaki $\alpha = 0,05$ in moči študije 0,8 potrebno v raziskavo vključiti najmanj 5 psov/skupino, pri moči študije 1 pa najmanj 10 psov/skupino. Glede na to, da predpostavke teh izračunov temeljijo na normalnosti porazdelitve, smo v vsako skupino vključili 10 psov, da bi v primeru kršitve predpostavk o normalnosti še vedno imeli dovolj velik učinek.

Pse smo naključno razdelili (Research Randomizer, <https://www.randomizer.org/>, ZDA) v 4 skupine po 10 psov (pozitivna kontrola, negativna kontrola in 2 testni skupini) (Slika 1). Vsem psom smo aplicirali LB na štiri mesta (levi in desni IO, levi in desni IA blok). Pozitivni kontrolni skupini smo IV aplicirali DEX (Dexdomitor, Zoetis, ZDA), negativni kontrolni skupini pa placebo (Sterilna voda za injiciranje, B Braun Medical Inc., ZDA). Obema kontrolnima skupinama smo na eno mesto perinevralno, poleg LB, aplicirali še placebo. Prvi testni skupini smo aplicirali DEX v levi ali desni IO blok ter placebo IV, drugi testni skupini pa smo aplicirali DEX v levi ali desni IA blok ter placebo IV. Uporabili smo 0,5 % LB (Chirocaine, AbbVie,

ZDA), odmerek pa smo izračunali s formulo $0,18 \text{ mL/kg}^{2/3}$ za IA blok in $0,11 \text{ mL/kg}^{2/3}$ za IO blok (Pascoe, 2020), pri čemer smo upoštevali, da maksimalni skupni odmerek LB ne preseže 2 mg/kg/psa . Odmerek DEX je bil vedno $0,5 \text{ } \mu\text{g/kg}$ ne glede na to, ali smo ga aplicirali perinevralno ali IV. Odmerek placeba je bil vedno volumsko enak odmerku DEX. Tako stomatolog, ki je apliciral področne bloke, kot anesteziist, ki je vodil anestezijo, do konca raziskave nista bila seznanjena, v katero skupino je žival uvrščena (dvojno slepa študija).



Slika 1: Zasnova raziskave.

Psi so bili naključno razporejeni v štiri skupine po 10 živali. Vsem psom smo aplicirali LB (vsi bloki). Deksmedetomidin v odmerku $0,5 \text{ } \mu\text{g/kg}$ smo aplicirali v infraorbitalni kanal (LB + DEX IO), v podsluznico v bližini inferiornega alveolarnega živca (LB + DEX IA) ali intravensko (LB + DEX IV). Placebo skupini (LB + PLC IV) smo IV aplicirali Sterilno vodo za injekcije. Odmerek LB za IO blok je bil $0,11 \text{ mL kg}^{2/3}$ in $0,18 \text{ mL kg}^{2/3}$ za IA blok. Količina perinevralno ali IV apliciranega placeba je bila enaka volumnu DEX. DEX, deksmedetomidin; IA, inferiorni alveolarni blok; IO, infraorbitalni blok; IV, intravensko; L, levo; LB, levobupivakain; PLC, placebo (Sterilna voda za injiciranje); D, desno.

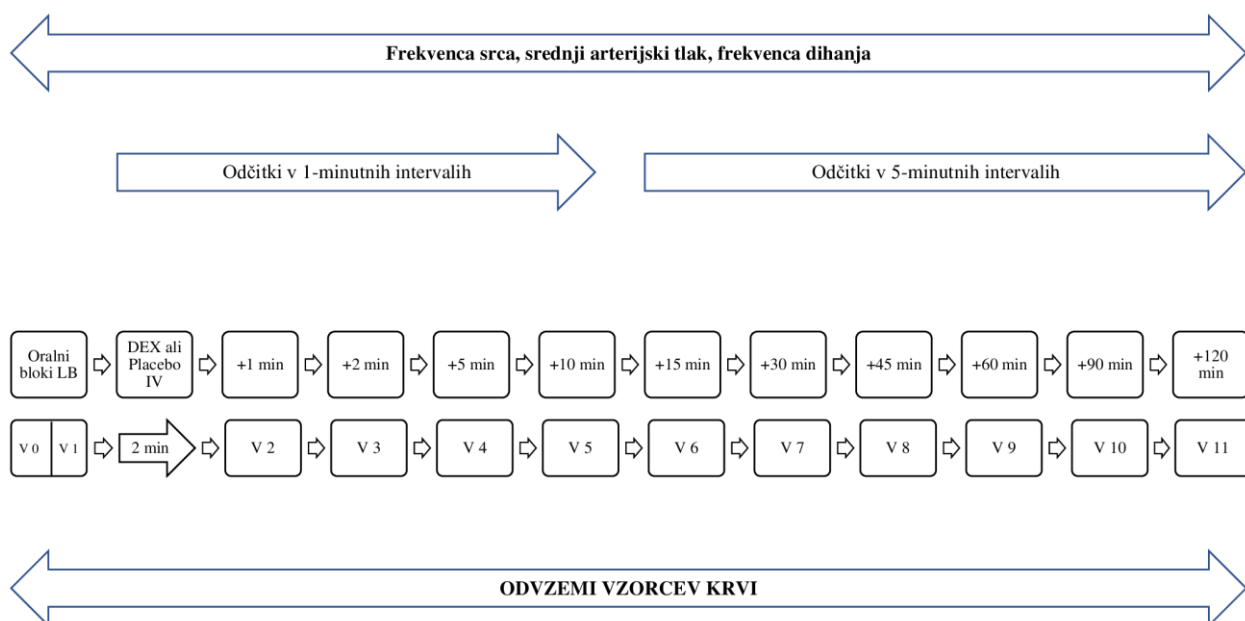
Figure 1: Study design.

Dogs were randomly assigned to four groups of 10 animals. All dogs were injected with levobupivacaine (all blocks). Dexmedetomidine $0.5 \text{ } \mu\text{g/kg}$ was administered into the infraorbital canal (DEX IO), submucosally near the inferior alveolar nerve (DEX IA) or intravenously (DEX IV). The placebo IV (PLC IV) group was administered Sterile Water for Injection IV. The dose of levobupivacaine was calculated as $0.11 \text{ mL/kg}^{2/3}$ for the IO block and $0.18 \text{ mL/kg}^{2/3}$ for the IA block. The volume of perineural or IV administered placebo was equal to the volume of dexmedetomidine. DEX, dexmedetomidine; IA, inferior alveolar block; IO, infraorbital block; IV, intravenously; L, left; LB, levobupivacaine; PLC, placebo (Sterile Water for Injection); D, right.

V drugi del raziskave smo poleg 10 psov iz prvega dela raziskave (negativna kontrolna skupina) vključili še 20 psov, pri katerih smo opravili različne stomatološke posege le na eni strani zgornje ali spodnje čeljusti. Pri teh psih smo aplicirali LB le na eno mesto, in sicer odvisno od klinične indikacije (10 psov levi ali desni IO blok, 10 psov levi ali desni IA blok). Odmerek LB smo izračunali enako kot pri psih v prvem delu raziskave.

Pred vključitvijo v raziskavo smo se z lastniki temeljito pogovorili o zdravstvenem stanju, prehrani in navadah živali, pse klinično pregledali in preverili osnovne krvne parametre (hemogram z diferencialno belo krvno sliko, biokemijske preiskave krvi, kot so koncentracija sečnine, kreatinina, celokupnih beljakovin, albuminov, glukoze in elektrolitov ter aktivnost encima alanin aminotransferaza). Psi so bili pred posegom tešči največ 12 ur, vodo pa so imeli na voljo do posega. Psom smo po ustaljenih principih asepse v cefalično veno vstavili vensko kanilo velikosti 20 G (BD Venflon, Becton Dickinson Infusion Therapy, Švedska). Premedicirali smo jih z 0,2 mg/kg metadona (Comfortan, Dechra, Velika Britanija) IV in jih nato po petih minutah uvedli v splošno anestezijo s propofolom (Propoven, Fresenius Kabi, ZDA) do učinka. Pse smo endotrahealno intubirali in anestezijo vzdrževali z izofluranom (Isoflurin, Vetpharma Animal Health, ZDA) v kisiku. Ko smo bili prepričani, da je žival v dovolj globoki anesteziji, smo področje nad dorzalno pedalno arterijo aseptično pripravili, vstavili 22 G kanilo (BD Venflon, Becton Dickinson Infusion Therapy, Švedska) in jo povezali s sistemom za direktno merjenje arterijskega tlaka. Kanila je služila tudi za odvzeme vzorcev krvi za analize (farmakokinetika DEX in LB, glukoza in kortizol). S pomočjo monitorja (B105 Patient Monitor, GE Medical Systems Information Technologies Inc., ZDA) smo spremljali sistolični, diastolični in srednji direktni arterijski tlak, frekvenco srca in pulza, frekvenco dihanja in koncentracijo izoflurana v vdihani in izdihani zmesi anestezijskih plinov. Ko je bila vrednost sistoličnega tlaka nad 80 mmHg, smo psom aplicirali karprofen (Rycarfa, Krka, Slovenija) v odmerku 4 mg/kg IV. Z istim monitorjem smo spremljali še EKG, delni tlak CO₂ na koncu izdiha (EtCO₂) in telesno temperaturo. Če so se frekvenca srca, dihanja ali srednji arterijski tlak zvišali za več kot 30 % bazalnih vrednosti, smo psom aplicirali fentanil (Fentanil Torrex, Chiesi, Italija) v odmerku 2 µg/kg IV. Če smo opazili pozitivni palpebralni refleks, ki ni bil posledica nocicepcije, smo psom apliciral propofol v odmerku 0,5–1 mg/kg IV in povišali koncentracijo vdihanega izoflurana za 0,1 %. Psom smo z infuzijsko črpalko (Infusion Pump SK-600I Vet, Shenzhen Mindray Scientific Co. LTD, Kitajska) med posegom aplicirali izotonično infuzijsko raztopino (Hartmannova raztopina Braun, B Braun, ZDA) v odmerku 5 mL/kg/h. Vrednosti parametrov (sistolični, srednji in diastolični arterijski tlak, frekvenco

srca/pulza in frekvenco dihanja) smo pri vsaki meritvi odčitali trikrat v času 15 sekund, saj smo s tem zmanjšali možnost napake pri odčitavanju. Najprej smo odčitali bazalne vrednosti (po vstavitvi arterijske kanile = časovna točka 0). Nato smo aplicirali oralne bloke in po aplikaciji zadnjega bloka nadaljevali z IV aplikacijo DEX ali placeba, ki je trajala dve minuti. Prej omenjene parametre smo 12 minut od začetka IV aplikacije odčitali enkrat na minuto, nato pa do konca posega na 5 minut (Slika 2). Psom smo 4 ure po prvi aplikaciji metadona zdravilo ponovno aplicirali v odmerku 0,2 mg/kg IV in po potrebi ponovili aplikacijo čez 4 ure ali pa smo jim 4 ure po aplikaciji metadona aplicirali enkratni IV odmerek 0,02 mg/kg buprenorfina (Bupredine, Dechra, Velika Britanija). Pri bolj obsežnem in bolj invazivnem posegu smo pooperacijsko analgezijo nadgradili s transdermalnim obližem s fentanilom (Durogesic, Janssen, ZDA) v odmerku 4 µg/kg/h. Vsem psom smo ob odpustu v domačo oskrbo predpisali karprofen (Rimadyl, Pfizer, ZDA) v odmerku 2 mg/kg/12 h peroralno (PO), čas dajanja pa smo odredili glede na invazivnost posega (2 do 7 dni).



Slika 2: Časovnica dogodkov.

DEX, deksmedetomidin, LB, levobupivakain, IV, intravensko, V, vzorec, V 0, vzorec vzet pred aplikacijo oralnih blokov, V 1, vzorec vzet nemudoma po aplikaciji zadnjega bloka.

Figure 2: Timeline of events.

DEX, dexmedetomidine; LB, levobupivacaine; IV, intravenous; V, sample; V 0, sample taken prior to administration of oral blocks; V 1, sample taken immediately after the completion of the last block.

3.2 Odvzem vzorcev krvi za farmakokinetične analize deksmedetomidina in levobupivakaina

Med anestezijo smo vsakokrat odvzeli 4 mL arterijske krvi v epruveto z litijevim heparinatom, in sicer pred aplikacijo oralnih blokov (časovna točka 0) in neposredno po aplikaciji oralnih blokov, ter 1, 2, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 in 120 minut po koncu IV aplikacije testne učinkovine (DEX ali placebo) (Slika 2). Najprej smo en mL krvi, pomešane s heparinizirano (Heparin Braun, B Braun Medical Inc., ZDA) fiziološko raztopino (0,9 % NaCl, B Braun Medical Inc., ZDA) za prepiranje arterijske kanile zavrgli, nato odvzeli vzorec in na koncu s 4 mL fiziološke raztopine preprali sistem za invazivno merjenje arterijskega tlaka. Za vsak korak smo uporabili novo brizgo. Vzorce smo centrifugirali s centrifugo Sigma 2K15C (Sigma Laboratory Centrifuges GmbH, Nemčija) na sobni temperaturi pri hitrosti 1500 g 15 minut. Plazmo smo odločili in jo do analize hranili pri -80°C .

3.3 Odvzem vzorcev krvi za določanje koncentracije kortizola in glukoze

Ob časovni točki 0 in na koncu posega smo odvzeli 2 mL arterijske krvi v serumsko epruveto s separacijskim gelom za določanje koncentracije kortizola. Vzorce smo centrifugirali s centrifugo Sigma 2K15C (Sigma Laboratory Centrifuges GmbH, Nemčija) na sobni temperaturi pri hitrosti 1300 g 10 minut. Serum smo do analize hranili pri -80°C . Ob časovni točki 0 in na koncu posega smo odvzeli še 0,5 mL arterijske krvi v brizgo za plinsko analizo krvi z litijevim heparinatom za določanje koncentracije glukoze.

3.4 Določanje deksmedetomidina v krvi

Vzorce plazme smo za analizo pripravili s pomočjo Ostro plošče s 96 vdolbinami (Waters Corp., Milford, ZDA) za obarjanje beljakovin in odstranitev fosfolipidov. Petdesetim μL plazme smo dodali 10 μL internega standarda DEX-d4 (Dexmedetomidine-d4 L-Tartrate, LGC/Toronto Research Chemicals, Canada) pri koncentraciji 10 ng/mL in ga s pomočjo 0,1 % mravljinčne kisline razredčili do prostornine 150 μL . Pred dodatkom 450 μL 0,1 % mravljinčne kisline v acetonitrilu smo to zmes prenesli v 2 mL vdolbino Ostro™ plošče. Vzorce smo nato trikrat aspirirali z večkanalno pipeto in jih na nadtlacnem ekstraktorju (Waters Corp.) pri tlaku 60 psi v 5 minutah prečrpali čez sorbent. Eluat smo posušili pod nežnim tokom dušika in ga nato rekonstituirali v 1 mL zmesi acetonitrila in 0,1 % mravljinčne kisline (3/7). Na koncu smo vzorec filtrirali skozi 0,2 μm filter z membrano iz regenerirane celuloze (Phenomenex,

Torrance, ZDA) in ga analizirali s tekočinsko kromatografijo sklopljeno s tandemsko masno spektrometrijo (LC-MS /MS).

Analiza LC-MS/MS je bila izvedena z uporabo tekočinskega kromatografa ultra visoke ločljivosti Nexera (Shimadzu Corp., Japonska), sklopljenega s sistemom QTRAP 4500 MS/MS (AB Sciex, Nemčija). Ločba je bil dosežena pri sobni temperaturi na 5-cm Ascentis Express C18 koloni (Supelco, Bellefonte, ZDA) z delci velikosti 2 μ m in notranjim premerom 2,1 mm. Mobilni fazi sta bili acetonitril (A) in 0,1 % mravljinčna kislina (B). Skupni pretok mobilnih faz je bil 0,3 mL/min, volumen injiciranega ekstrakta vzorca pa je znašal 20 μ L. Gradient mobilnih faz smo začeli pri 70 % B in ga znižali na 50 % B v 2,5 minute. V naslednje 0,5 minute smo ga znižali na 0 % B in ga pri tej vrednosti vzdrževali še 0,5 minute. Gradient smo nato povišali nazaj na 70 % B in kolono pri tem razmerju ekvilibrirali še 1,5 minute. Ionski izvor masnega spektrometra je deloval pri pozitivni ionizaciji z razprševanjem v električnem toku pri temperaturi 600 °C. Snemanje je potekalo v načinu spremljanja zajema več reakcij, in sicer s prehodi 201 > 95, 201 > 115, in 201 > 91 za DEX ter 205 > 99 za DEX-d4. Obdelavo podatkov smo izvedli s pomočjo programske opreme Analyst v1.6.3.

Umeritveno območje se je raztezalo od 0,02 do 10 ng/mL z linearnim regresijskim količnikom >0,99. Meja kvantifikacije (LOQ) je bila postavljena pri 0,02 ng/mL, meja detekcije (LOD) pa pri 0,002 ng/mL, kar je na nivoju metode ustrezalo vrednostim 0.4 ng/mL in 0.04 ng/mL. Kakovost priprave vzorcev in analize smo spremljali s slepimi topili, slepimi vzorci in obogatenimi kontrolnimi vzorci, pripravljenimi z dodatkom DEX in internega standarda pri LOQ koncentraciji k slepemu vzorcu plazme. Validacija metode in vsi postopki preverjanja kakovosti metode so bili v skladu s smernicami FDA za validacijo bioanalitskih metod (<https://www.fda.gov/files/drugs/published/Bioanalytical-Method-Validation-Guidancefor-Industry.pdf>).

3.5 Določanje levobupivakaina v krvi

Vzorci plazme smo za analizo pripravili s pomočjo Ostro plošče s 96 vdolbinami (Waters Corp., Milford, ZDA) za obarjanje beljakovin in odstranitev fosfolipidov. Petdesetim μ L plazme smo dodali 4 μ L internega standarda bupivakain-d9 (Bupivakain-d9 HCl, LGC/Toronto Research Chemicals, Kanada) pri koncentraciji 2,5 μ g/mL in ga s pomočjo 0,1 % mravljinčne kisline razredčili do prostornine 150 μ L. Pred dodatkom 450 μ L 0,1 % mravljinčne kisline v acetonitrilu smo to zmes prenesli v 2 mL vdolbino Ostro™ plošče. Vzorci smo nato trikrat aspirirali z večkanalno pipeto in jih na nadtlačnem ekstraktorju (Waters Corp.) pri tlaku 60 psi

v 5 minutah prečrpali čez sorbent. Eluat smo posušili pod nežnim tokom dušika in ga nato rekonstituirali v 1 mL zmesi acetonitrila in 0,1 % mravljinčne kisline (3/7). Na koncu smo vzorec filtrirali skozi 0,2 μ m filter z membrano iz regenerirane celuloze (Phenomenex, Torrance, ZDA) in ga analizirali z LC-MS /MS.

Analiza LC-MS /MS je bila izvedena z uporabo tekočinskega kromatografa ultra visoke ločljivosti Nexera (Shimadzu Corp., Japonska), sklopljenega s sistemom QTRAP 4500 MS/MS (AB Sciex, Nemčija). Ločba je bil dosežena pri sobni temperaturi na 5-cm Ascentis Express C18 koloni (Supelco, Bellefonte, ZDA) z delci velikosti 2 μ m in notranjim premerom 2,1 mm. Mobilni fazi sta bili acetonitril (A) in 0,1 % mravljinčna kislina (B). Skupni pretok mobilnih faz je bil 0,3 mL/min, volumen injiciranega ekstrakta vzorca pa je znašal 1 μ L. Gradient mobilnih faz smo začeli pri 70 % B in ga znižali na 50 % B v 2,5 minute. V naslednje 0,5 minute smo ga znižali na 0 % B in ga pri tej vrednosti vzdrževali še 0,5 minute. Gradient smo nato povišali nazaj na 70 % B in kolono pri tem razmerju ekvilibrirali še 1,5 minute. Ionski izvor masnega spektrometra je deloval pri pozitivni ionizaciji z razprševanjem v električnem toku pri temperaturi 600 °C. Snemanje je potekalo v načinu spremljanja zajema več reakcij, in sicer s prehodi 289 > 140, 289 > 98 in 289 > 112 za LB ter 298 > 149 in 198 > 101 za interni standard LB-d9.

Mejo kvantifikacije (LOQ) smo postavili pri 16 ng/mL, meja detekcije (LOD) pa je bila pri 6,0 ng/mL. Umeritveno območje se je raztezalo od LOQ do 4,0 μ g/mL z linearnim regresijskim količnikom >0,999. Kakovost priprave vzorcev in analize smo spremljali s slepimi topili, slepimi postopki in obogatenimi kontrolnimi vzorci, pripravljenimi z dodatkom LB in internega standarda pri LOQ koncentraciji k slepemu vzorcu plazme. Za vzorce QC je bila natančnost $\pm$ 15 %, točnost pa $\pm$ 7,3 %. Validacija metode in vsi postopki preverjanja kakovosti metode so bili v skladu s smernicami FDA za validacijo bioanalitskih metod (<https://www.fda.gov/files/drugs/published/Bioanalytical-Method-Validation-Guidancefor-Industry.pdf>).

3.6 Farmakokinetični izračuni za deksmedetomidin

Farmakokinetične izračune smo opravili na Inštitutu za farmakologijo in eksperimentalno toksikologijo na Medicinski fakulteti Univerze v Ljubljani.

Standardne farmakokinetične parametre, kot so razpolovni čas ($t_{1/2}$), očistek (CL_p) in volumen distribucije (V_D), smo izračunali s pomočjo nekompartmentalne analize dejanskih krivulj plazemske koncentracije v odvisnosti od časa z uporabo dvofazne nelinearne regresije faze

eliminacije v primerjavi z enofazno fazo eliminacije (GraphPad Prism 9.00, GraphPad Software, ZDA).

Razpolovni čas je bil izračunan z enačbo

$$t_{1/2} = 0,693/k_{el},$$

kjer je k_{el} konstanta hitrosti eliminacije.

Očistek je bil izračunan z enačbo

$$CL_p = \text{odmerek}/AUC_{(0 \rightarrow 120 \text{ min})}.$$

Volumen porazdelitve (V_D) je bil izračunan z enačbo

$$V_D = (t_{1/2} \times CL_p)/\ln 2.$$

Površina pod krivuljo ($AUC_{(0 \rightarrow 120 \text{ min})}$) je bila izračunana kot AUC od časovne točke 0 do zadnje izmerjene časovne točke, ki je bila v našem primeru pri 120 minutah s pomočjo linearne trapezoidne metode.

3.7 Farmakokinetični izračuni za levobupivakain

Farmakokinetične parametre smo izračunali s pomočjo programa GraphPad Prism 9.4.1. Najvišja plazemska koncentracija in T_{max} sta bila določena neposredno iz surovih podatkov izmerjene koncentracije LB v krvni plazmi za vsako žival posebej. Površina pod krivuljo ($AUC_{(0 \rightarrow 120 \text{ min})}$) je bila tudi v tem primeru izračunana kot AUC od časovne točke 0 do zadnje izmerjene časovne točke, ki je bila v našem primeru pri 120 minutah s pomočjo linearne trapezoidne metode.

3.8 Določanje koncentracije kortizola in glukoze v krvi

Koncentracijo kortizola v serumu smo določili v laboratoriju Klinike za reprodukcijo in velike živali Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani. Kortizol smo izmerili z uporabo avtomatiziranega encimsko vezanega fluorescenčnega testa VIDAS Cortisol S s pomočjo analizatorja MiniVIDAS (BioMerieux S.A., Francija). Mejo analitične detekcije smo postavili pri 2 ng/mL ali 5,52 nmol/L, mejo funkcionalne detekcije z 20 % koeficientom variacije med serijami pa pri 5,15 ng/mL ali 14,21 nmol/L. Ponovljivost, obnovljivost med vzorci in

obnovljivost med serijami smo izračunali na podlagi protokola, ki temelji na priporočilih NCCLS dokumenta EP5-A2. Z uporabo nastavka za trdno fazo (Solid Phase Receptacle -SPR) smo reakcijski medij večkrat dodali in odstranili. Vzorec je bil nato avtomatično prenesen s pomočjo SPR nastavka v vdolbinico s konjugatom, ki je vseboval derivat kortizola. Kortizol v vzorcu in derivat kortizola v konjugatu sta tekmovala za mesta na specifičnem protitelesu proti kortizolu v nastavku SPR. V zadnji fazi detekcije se je substrat večkrat avtomatično dodal in odstranil iz nastavka SPR. Konjugirani encim je ta substrat hidroliziral v fluorescentno spojino (fluorescenca je bila izmerjena pri 450 nm), intenzivnost fluorescence pa je bila obratno sorazmerna s koncentracijo antigena v vzorcu (Tehnične smernice BioMerieux VIDAS Cortisol S (CORS), REF: 30451-30). Kalibracijo in analizo kontrolnega vzorca smo izvajali redno in po navodilih proizvajalca. Vse vzorce smo analizirali v dvojniku. Osebj, ki je izvajalo analize vzorcev, ni vedelo, v katero skupino spada posamezni vzorec.

Koncentracijo glukoze v krvi smo določili v laboratoriju Klinike za male živali Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani s pomočjo plinskega analizatorja krvi RapidPoint 500 (Siemens, Nemčija).

3.9 Ocena sedacije in obnašanja

Z validirano numerično lestvico za ocenjevanje sedacije (povzeto po Grint in sod., 2009 ter Wagner in sod., 2017), smo ocenili stopnjo sedacije pred posegom (bazalna vrednost, T_{BA}) in nato vsako uro do 6 ur po koncu posega (T_{AA1} – T_{AA6}). Končni seštevki ocene sedacije so bili razdeljeni v naslednje kategorije: nesedirana žival do blaga sedacija (0–3), zmerna sedacija (4–12) in globoka sedacija (13–21). Zaradi večje objektivnosti pri oceni sedacije pri odzivu na hrup smo namesto ploska uporabili »kliker« v oddaljenosti 150 cm od glave psa.

Z validirano numerično lestvico za ocenjevanje obnašanja (povzeto po Becker in sod., 2013) smo ocenjevali obnašanje psov pred posegom (bazalna vrednost, T_{BA}), po ekstubaciji (T_{EXT}) in nato vsako uro do 6 ur po koncu posega (T_{AA1} – T_{AA6}). Razpon seštevka ocene obnašanja je bil od 1 do 4 (Prilogi 1 in 2).

3.10 Ocena bolečine in kvalitete življenja

Z validirano sestavljeno numerično lestvico za ocenjevanje bolečine smo ocenili stopnjo bolečine in kvaliteto življenja pred posegom in 14 dni po posegu (povzeto po Della Rocca in

sod., 2019). Obakrat sta stanje ocenila lastnik živali (posebej prilagojena lestvica za lastnike) in veterinar (stomatolog in anesteziist) (Prilogi 3 in 4).

3.11 Statistične analize

Za statistično obdelavo podatkov smo uporabili programa Jamovi 2.0.0.0 (The Jamovi Project 2021, Australia) in RStudio (RStudio PBC, ZDA). Normalnost porazdelitve spremenljivk smo preverili s Shapiro-Wilk testom. Da bi izključili dejavnike, kot so teža, starost, razmerje med spoloma in trajanje anestezije kot možne razloge za razlike med skupinami, smo uporabili Kruskal-Wallisov test in Fisherjev natančen test. Spremenljivke v različnih časovnih točkah so bile primerjane med posameznimi skupinami in z bazalnimi vrednostmi znotraj skupin. Normalno porazdeljene spremenljivke smo analizirali s parnim t-testom, nenormalno porazdeljene pa z Wilcoxonovim testom, ki smo ju uporabili za prepoznavanje značilnih razlik znotraj skupine. Za prepoznavanje pomembnih razlik med skupinami smo uporabili Kruskal-Wallisov test (za nenormalno porazdeljene spremenljivke) in enosmerno ANOVA (za normalno porazdeljene spremenljivke). Če so analize pokazale pomembne razlike med skupinami, smo uporabili še ustrezne post-hoc teste (Tukeyjev, Dwass-Steel-Critchlow-Fligner ali Dunnov post-hoc test), ki jim je sledil Bonferronijev popravek, in s pomočjo katerih smo lahko prepoznali, kateri dve skupini sta se med seboj značilno razlikovali. Zaradi kombinacije normalno in nenormalno porazdeljenih spremenljivk so nekatere vrednosti predstavljene z mediano in interkvartilnimi razmiki ter mediano in minimalnimi-maksimalnimi vrednostmi. Kadar pa so bile spremenljivke porazdeljene normalno, so vrednosti predstavljene s povprečjem in standardnim odklonom (SD) ali povprečjem in standardno napako (SEM). Meja statistične značilnosti je bila postavljena pri $p < 0,05$.

4 REZULTATI

4.1 Prvi del raziskave

Prvi del študije smo uspešno zaključili pri vseh razen pri enem psu iz skupine LB+DEX IA, ki si je med okrevanjem po posegu zgrizel jezik. Psa smo nemudoma uvedli v splošno anestezijo, mu zašili poškodovani jezik in ga hospitalizirali za 20 ur. Med hospitalizacijo smo mu za pomiritev in analgezijo aplicirali z DEX v odmerku $0,5 \mu\text{g/kg/h}$ IV. Na kontrolnem pregledu 14 dni po posegu pes ni kazal nikakršnih znakov poškodb jezika. Ker smo zaradi tega dogodka sedacijo in obnašanje po posegu lahko ocenjevali le do eno uro po koncu anestezije (T_{AA1}), smo psa izvzeli iz ocenjevanja sedacije in obnašanja po posegu. Pri nobenem drugem psu po posegu nismo opazili neželenih učinkov aplikacije LA.

Psi v prvem delu študije so bili stari 59 ± 43 mesecev (povprečje $\pm$ SD) in tehtali $25,2 \pm 9,8$ kg (povprečje $\pm$ SD). Med skupinami ni bilo pomembne razlike v telesni masi ($\chi^2(3) = 1,03$, $p = 0,795$), starosti ($\chi^2(3) = 2,09$ $p = 0,554$) in razmerju med spoloma ($p = 0,608$, Fisherjev natančen test).

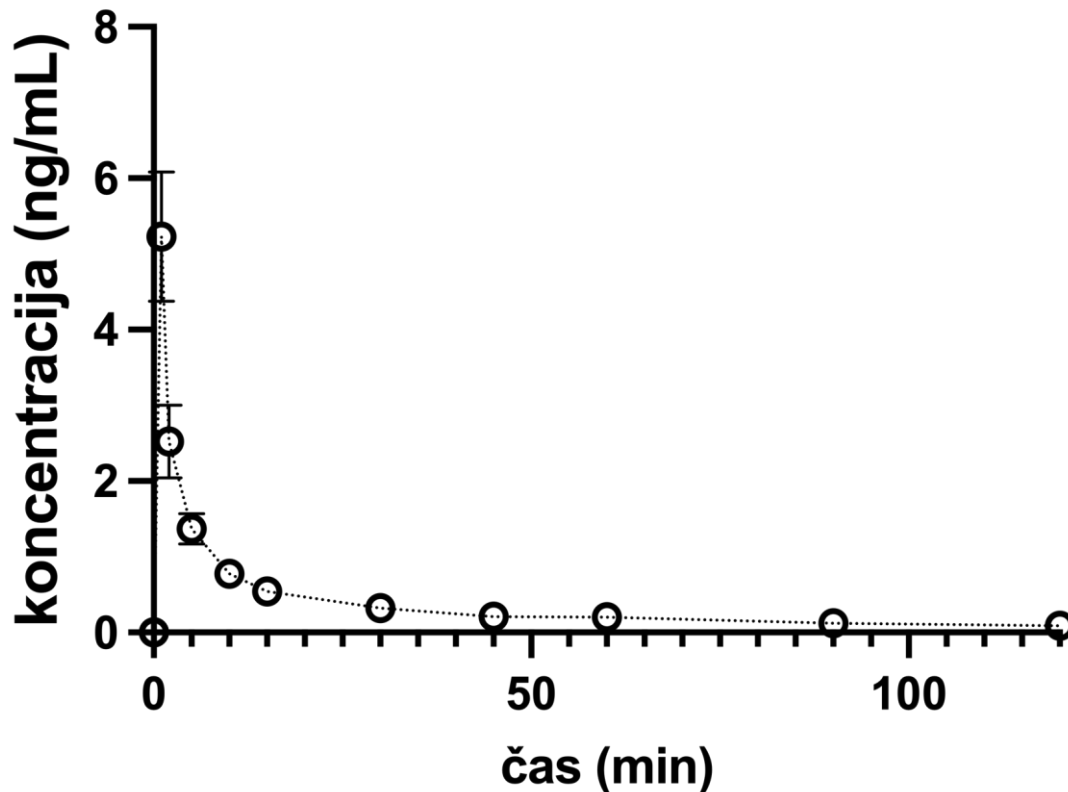
Čas anestezije od indukcije do ekstubacije je bil 128 ± 34 minut (povprečje $\pm$ SD). Med skupinami so bile značilne razlike v času anestezije (Welchov test $F(3) = 5,56$, $p < 0,01$), pri čemer so post-hoc testi pokazali, da je bil v skupini LB + DEX IV čas anestezije značilno krajši kot pri skupini LB + DEX IO ($p = 0,034$). Nobenemu psu ni bilo potrebno aplicirati fentanila med posegom. Trem psom v skupini LB + DEX IV, šestim psom v skupini LB + DEX IO, sedmim psom v skupini LB + DEX IA in šestim psom v skupini LB + PLC IV pa smo morali poglobiti anestezijo z aplikacijo propofola in/ali pa povišanjem koncentracije vdihanega izoflurana.

4.1.1 Farmakokinetika deksmedetomidina

Podatki o koncentraciji DEX v plazmi v odvisnosti od časa so bili analizirani za vsakega psa posebej in za vseh 10 psov v posamezni skupini.

Najvišja plazemska koncentracija po IV aplikaciji DEX je bila $7,29 \pm 0,13$ ng/mL, ko smo jo ekstrapolirali glede na čas aplikacije (T_0) in $5,23 \pm 0,85$ ng/mL, če smo jo določili iz surovih

podatkov. Krivulja izločanja je upadala eksponentno, kar je najbolj ustrezalo enofazni krivulji izločanja s $t_{1/2}$ $5,98 \pm 0,46$ min (Slika 3).



Slika 3: Koncentracija DEX v krvi v odvisnosti od časa po enkratni IV aplikaciji 0,5 µg/kg.

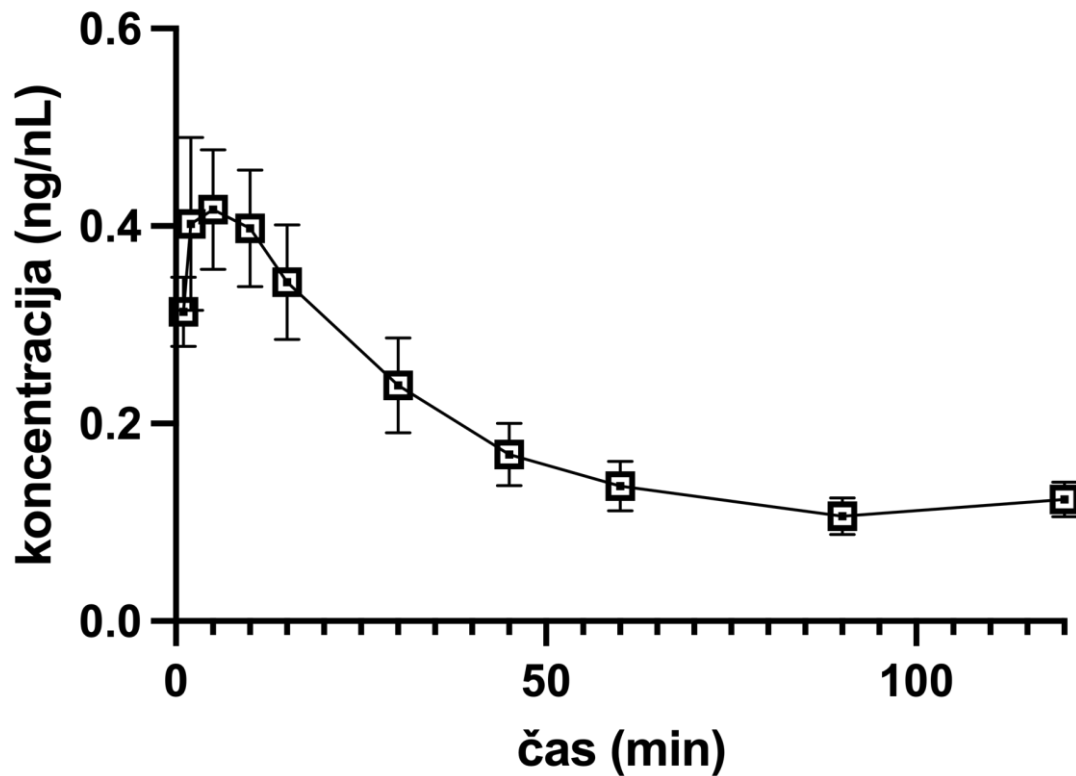
Pse ($n = 10$) smo premedicirali z metadonom IV, uvedli v splošno anestezijo s propofolom in jo vzdrževali z izofluranom v kisiku. Z LB smo omrtvičili vse štiri kvadrante ustne votline (oba IO in IA bloka). Podatki so predstavljeni kot povprečje $\pm$ SEM (standardna napaka).

Figure 3: Concentration-versus-time profile of a single 0.5 µg/kg IV dose of DEX.

Dogs ($n = 10$) were premedicated with methadone IV, and anaesthesia was induced with propofol and maintained with isoflurane in oxygen. Levobupivacaine was used to desensitize all four quadrants of the oral cavity (both IO and both IA blocks). The data are presented as mean $\pm$ SEM.

Najvišja plazemska koncentracija po IO aplikaciji je bila $0,47 \pm 0,08$ ng/mL pri $T_{\max}$ $7,22 \pm 1,28$ min (Slika 4). Najvišja plazemska koncentracija po IA aplikaciji je bila $0,76 \pm 0,09$ ng/mL pri $T_{\max}$ $7,50 \pm 1,63$ min (Slika 5). Povprečni končni $t_{1/2}$ je bil $63,44 \pm 24,15$ minut pri IO

aplikaciji in $23,78 \pm 3,78$ minut pri IA aplikaciji. Oba sta bila značilno daljša ($p < 0,01$) v primerjavi z IV aplikacijo.

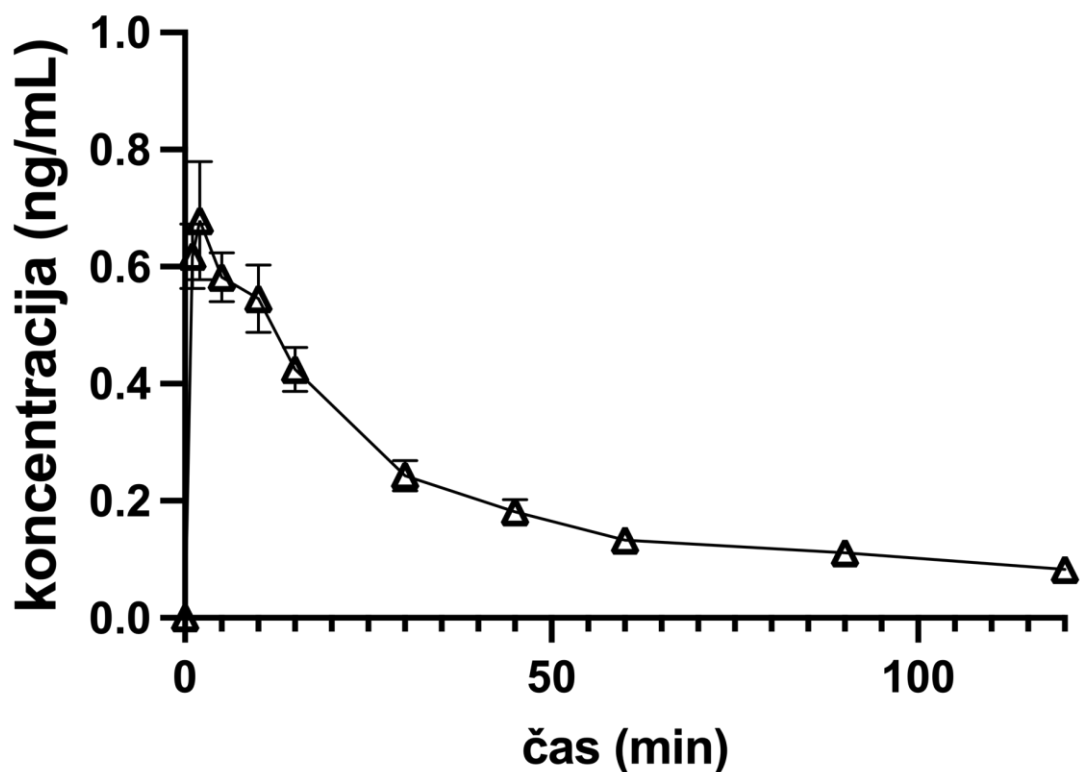


Slika 4: Koncentracija DEX v odvisnosti od časa po enkratni perineuralni aplikaciji 0,5 µg/kg (IO blok).

Deksmedetomidin smo aplicirali skupaj z LB v levi ($n = 5$) ali desni ($n = 5$) IO kanal. Pse ($n = 10$) smo premedicirali z metadonom IV, uvedli v splošno anestezijo s propofolom in jo vzdrževali z izofluranom v kisiku. Z LB smo omlrtvičili vse štiri kvadrante ustne votline (oba IO in IA bloka). Podatki so predstavljeni kot povprečje $\pm$ SEM (standardna napaka).

Figure 4: Concentration-versus-time profile of a single 0.5 µg/kg dose of DEX (IO block).

Dexmedetomidine was injected together with LB perineurally into the left ($n = 5$) or right ($n = 5$) IO canal. Dogs ($n = 10$) were premedicated with methadone intravenously, and anaesthesia was induced with propofol and maintained with isoflurane in oxygen. Levobupivacaine was used to desensitize all four quadrants of the oral cavity (both IO and both IA blocks). The data are presented as mean $\pm$ SEM.



Slika 5: Koncentracija DEX v odvisnosti od časa po enkratni perinevralni aplikaciji 0,5 µg/kg (IA blok).

Deksmedetomidin smo aplicirali skupaj z LB v podsluznico ob levem ($n = 5$) ali desnem ($n = 5$) IA živcu. Pse ($n = 10$) smo premedicirali z metadonom IV, uvedli v splošno anestezijo s propofolom in jo vzdrževali z izofluranom v kisiku. Z LB smo omrtvičili vse štiri kvadrante ustne votline (oba IO in IA bloka). Podatki so predstavljeni kot povprečje $\pm$ SEM (standardna napaka).

Figure 5: Concentration-versus-time profile of a single 0.5 µg/kg dose of DEX (IA block).

Dexmedetomidine was injected together with LB perineurally into the submucosa near the left ($n = 5$) or right ($n = 5$) IA nerve. Dogs ($n = 10$) were premedicated with methadone intravenously, and anaesthesia was induced with propofol and maintained with isoflurane in oxygen. Levobupivacaine was used to desensitize all four quadrants of the oral cavity (both IO and both IA blocks). The data are presented as mean $\pm$ SEM.

Biološka razpoložljivost DEX je bila 0,48 po IO aplikaciji in 0,56 po IA aplikaciji. Ostali farmakokinetični parametri so podani v Tabeli 1.

Tabela 1: Izračunani farmakokinetični parametri (povprečje $\pm$ SEM) po IV ($n = 10$), IO ($n = 10$) in IA ($n = 10$) aplikaciji DEX 0,5 $\mu\text{g/kg}$.

Pse smo premedicirali z metadonom IV, uvedli v splošno anestezijo s propofolom in jo vzdrževali z izofluranom v kisiku. Z LB smo omrtvičili vse štiri kvadrante ustne votline (oba IO in IA bloka). Podatki so predstavljeni kot povprečje $\pm$ SEM (standardna napaka).

Table 1: Calculated pharmacokinetic parameters (mean $\pm$ SEM) of dexmedetomidine 0.5 $\mu\text{g/kg}$ administered IV ($n = 10$), IO ($n = 10$) and IA ($n = 10$).

Dogs were premedicated with methadone IV, and anaesthesia was induced with propofol and maintained with isoflurane in oxygen. Levobupivacaine was used to desensitize all four quadrants of the oral cavity (both IO and both IA blocks). The data are presented as mean $\pm$ SEM.

	DEX IV	DEX IO	DEX IA
Število psov, n	10	10	10
$AUC_{(0 \rightarrow 120)}$ (ng/mL x min)	42.11 ± 5.01	$20.08 \pm 3.82^*$	$23.78 \pm 3.78^*$
V_D (L/kg)	0.12 ± 0.02		
Cl (mL/min/kg)	14.17 ± 1.58		

$AUC_{(0 \rightarrow 120 \text{ min})}$, površina pod krivuljo od časovne točke 0 do zadnje merljive časovne točke (120 min); Cl, očistek; IA, inferiorni alveolarni blok; IO, infraorbitalni blok; IV, intravensko; V_D , volumen distribucije.* v primerjavi z IV aplikacijo ($p < 0,01$, enosmerna ANOVA).

$AUC_{(0 \rightarrow 120 \text{ min})}$, the area under the curve from time 0 to the last quantifiable data point (120 min); Cl, clearance; IA, inferior alveolar block; IO, infraorbital block; IV, intravenously; V_D , volume of distribution. *Compared to IV administration ($p < 0.01$, one-way ANOVA).

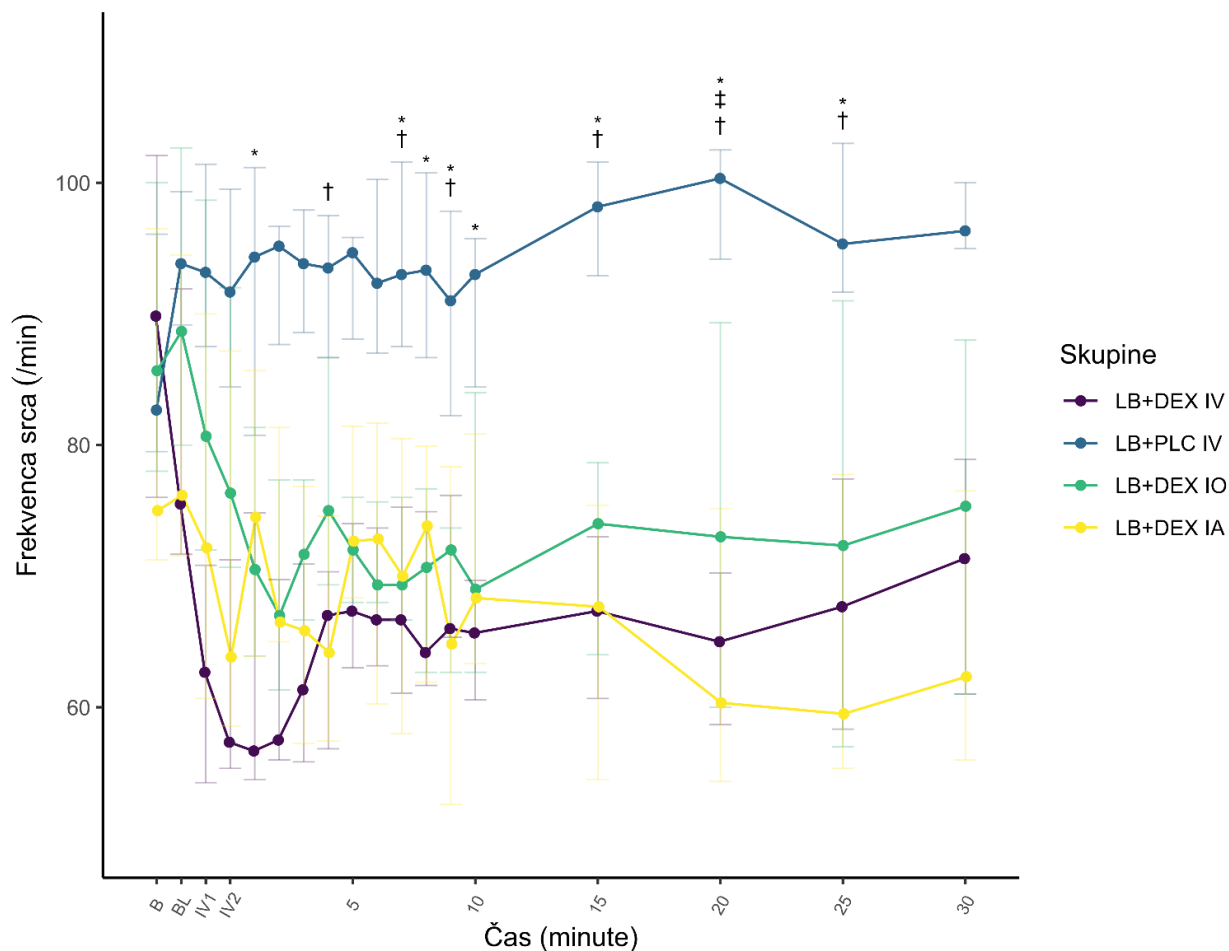
4.1.2 Odziv obtočil in dihanja na aplikacijo deksmedetomidina

Pred aplikacijo DEX med skupinami ni bilo pomembnih razlik glede frekvence srca ($F(3) = 0,324, p = 0,81$), srednjega arterijskega tlaka ($F(3) = 1,498, p = 0,23$) in frekvence dihanja ($H(3) = 1,162, p = 0,76$).

Ugotovili pa smo, da je po aplikaciji DEX med skupinami prišlo do večjih značilnih sprememb v frekvenci srca ($F(1) = 29,992, p < 0,01, p_2 = 0,08$) in srednjega arterijskega tlaka ($F(1) =$

24,663, $p < 0,01$, $p_2 = 0,06$) ter manjših značilnih sprememb v frekvenci dihanja ($F(1) = 12,726$, $p < 0,01$, $p_2 = 0,03$).

Frekvenca srca v skupini LB+DEX IV je bila v primerjavi z bazalno vrednostjo značilno nižja od prve minute IV aplikacije (IV1) do 30 minut po koncu IV aplikacije. V skupini LB+PLC IV je bila frekvenca srca značilno višja le pri časovni točki IV1. Frekvenca srca v skupini LB+DEX IO je bila v primerjavi z bazalno vrednostjo značilno nižja od druge minute IV aplikacije (IV2) do 30 minut po koncu IV aplikacije. Frekvenca srca v skupini LB+DEX IA pa je bila značilno nižja pri IV1 in IV2 ter 2 do 4, 9 in 15 do 30 minut po koncu IV aplikacije. Pet psov v skupini LB+DEX IV in po en pes v skupinah LB+DEX IO ter LB+DEX IA so razvili atrioventrikularne (AV) bloke druge stopnje med IV aplikacijo ali do eno minuto po koncu IV aplikacije DEX. Frekvenca srca je bila v primerjavi s skupino LB+PLC IV značilno nižja: 1. v skupini LB+DEX IV od ene do 25 minut po koncu IV aplikacije, 2. v skupini LB+DEX IA od pet do 25 minut po koncu IV aplikacije in 3. v skupini LB+DEX IO 20 minut po koncu IV aplikacije (Slika 6).



Slika 6: Frekvenca srca pred in po aplikaciji deksmedetomidina (DEX) in/ali placeba s časovnimi točkami (5, 10, 15, 20, 25 in 30 minut), ki predstavljajo vrednosti po končani intravenski (IV) aplikaciji DEX ali placeba.

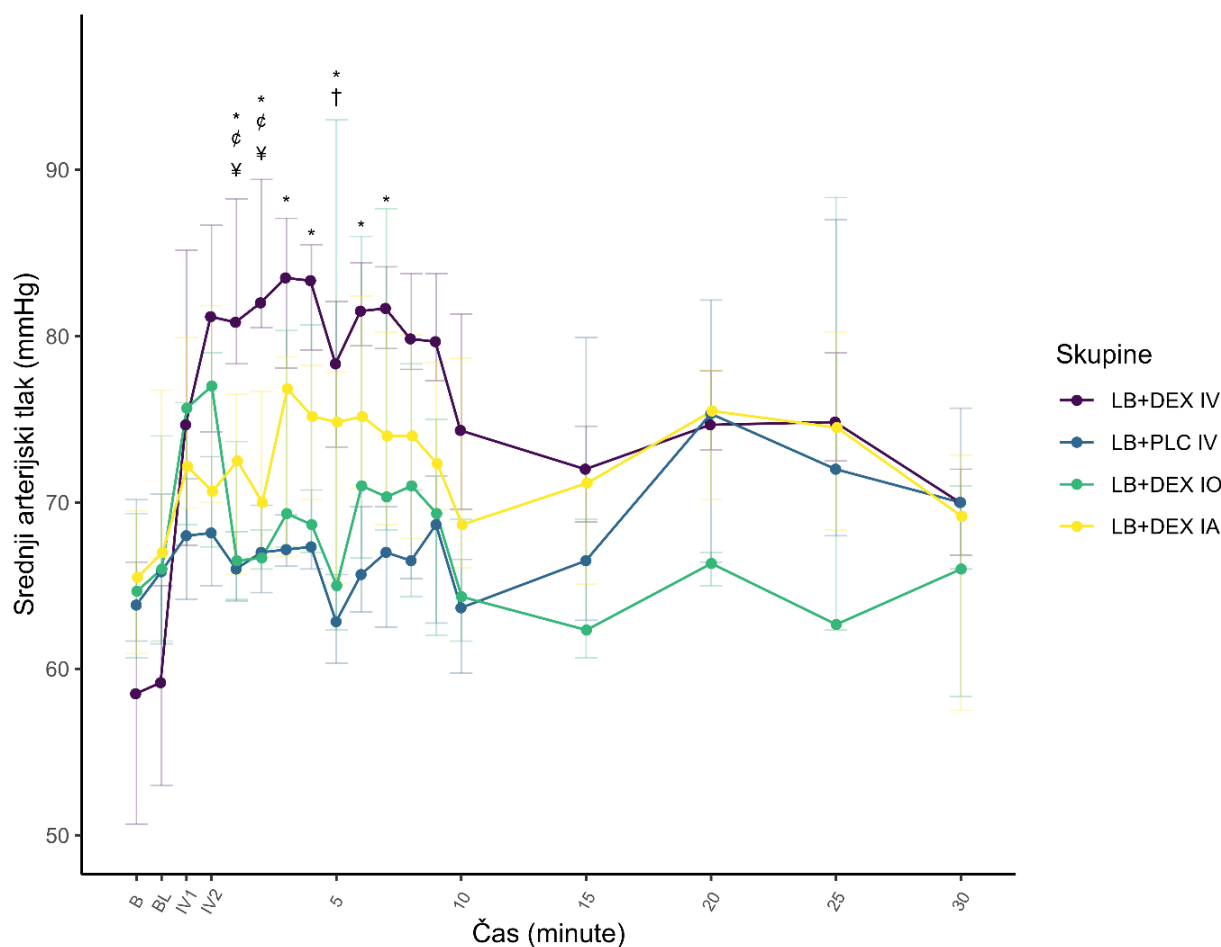
Levobupivakain (LB) smo uporabili za oba infraorbitalna in inferiorna alveolarna bloka. Vrednosti so izražene kot mediana in interkvartilni razmiki. B, bazalna vrednost pred aplikacijo oralnih blokov; BL, takoj po aplikaciji oralnih blokov; IV1, eno minuto po IV aplikaciji DEX ali placeba; IV2, dve minuti po IV aplikaciji DEX ali placeba; LB+DEX IA, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB in DEX perinevralno v podsluznico ob odprtini mandibularne odprtine; LB+DEX IO, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB in DEX perinevralno v infraorbitalni kanal; LB+DEX IV, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB perinevralno in DEX IV (pozitivna kontrola); LB+PLC IV, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB perinevralno in placebo IV (negativna kontrola). * značilna razlika ($p < 0,05$) med skupinama LB+PLC IV in LB+DEX IV. † značilna razlika ($p < 0,05$) med skupinama LB+PLC IV in LB+DEX IA. ‡ značilna razlika ($p < 0,05$) med skupinama LB+PLC IV in LB+DEX IO.

Figure 6: Heart rate before and after administration of dexmedetomidine (DEX) and/or placebo with time points (5, 10, 15, 20, 25, and 30 min) presenting values after completion of IV application of DEX or placebo.

Levobupivacaine (LB) was used for both infraorbital and inferior alveolar blocks. Values are expressed as median and interquartile range. B, baseline value, prior to administration of oral blocks; BL, immediately after administration of oral blocks; IV1, after one min of IV application of DEX or placebo; IV2, after two min/completion of IV application of DEX or placebo; LB+DEX IA, dogs ($n = 10$) which received LB and DEX

perineurally into the submucosa at the opening of the mandibular foramen; LB+DEX IO, dogs ($n = 10$) which received LB and DEX perineurally into the infraorbital canal; LB+DEX IV, dogs ($n = 10$) which received LB perineurally and DEX IV (positive control); LB+PLC IV, dogs ($n = 10$) which received LB perineurally and placebo IV (negative control). * significant difference ($p < 0.05$) between the LB+PLC IV and LB+DEX IV groups. † significant difference ($p < 0.05$) between the LB+PLC IV and LB+DEX IA groups. ‡ significant difference ($p < 0.05$) between the LB+PLC IV and LB+DEX IO groups.

V skupini LB+DEX IV je bil srednji arterijski tlak v primerjavi z bazalno vrednostjo značilno višji od časovne točke IV1 do 30 minut po koncu IV aplikacije. V skupini LB+PLC IV se srednji arterijski tlak ni značilno spremenil po aplikaciji placeba. V skupini LB+DEX IO je bil srednji arterijski tlak značilno višji v časovnih točkah IV1, IV2 ter 2 do 5, 7 in 8 minut po koncu IV aplikacije. V skupini LB + DEX IA pa je bil srednji arterijski tlak značilno višji od časovne točke IV1 do 9 minut po koncu IV aplikacije, razen v časovni točki 8 minut po koncu IV aplikacije. Srednji arterijski tlak je bil v primerjavi s skupino LB+PLC IV značilno višji: 1. v skupini LB+DEX IV od ene do sedem minut po koncu IV aplikacije in 2. v skupini LB+DEX IA skupini pet minut po koncu IV aplikacije. Srednji arterijski tlak je bil značilno višji v skupini LB+DEX IV v primerjavi s skupinama LB+DEX IA in LB+DEX IO od ene do dveh minut po koncu IV aplikacije (Slika 7).



Slika 7: Srednji arterijski tlak pred in po aplikaciji deksmedetomidina (DEX) in/ali placeba s časovnimi točkami (5, 10, 15, 20, 25 in 30 minut), ki predstavljajo vrednosti po končani intravenski (IV) aplikaciji DEX ali placeba.

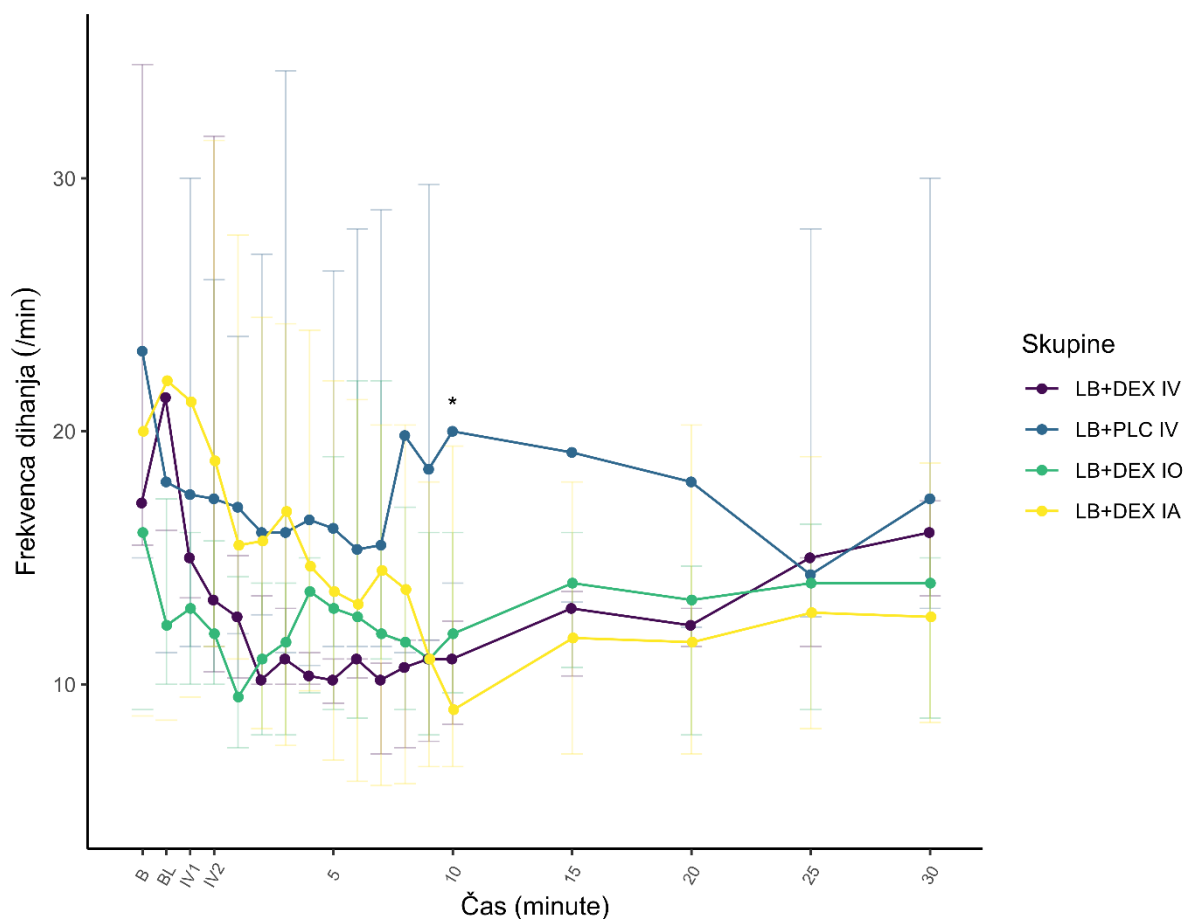
Levobupivakain (LB) smo uporabili za oba infraorbitalna in inferiorna alveolarna bloka. Vrednosti so izražene kot mediana in interkvartilni razmiki. B, bazalna vrednost pred aplikacijo oralnih blokov; BL, takoj po aplikaciji oralnih blokov; IV1, eno minuto po IV aplikaciji DEX ali placeba; IV2, dve minuti po IV aplikaciji DEX ali placeba; LB DEX IA, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB in DEX perinevralno v podsluznico ob odprtini mandibularne odprtine; LB+DEX IO, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB in DEX perinevralno v infraorbitalni kanal; LB+DEX IV, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB perinevralno in DEX IV (pozitivna kontrola); LB+PLC IV, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB perinevralno in placebo IV (negativna kontrola). * značilna razlika ($p < 0,05$) med skupinama LB+PLC IV in LB+DEX IV. † značilna razlika ($p < 0,05$) med skupinama LB+PLC IV in LB+DEX IA. ‡ značilna razlika ($p < 0,05$) med skupinama LB DEX IV in LB+DEX IA. § značilna razlika ($p < 0,05$) med skupinama LB+DEX IV in LB+DEX IO.

Figure 7: Mean arterial pressure before and after administration of dexmedetomidine (DEX) and/or placebo with time points (5, 10, 15, 20, 25, and 30 min) presenting values after completion of IV application of DEX or placebo.

Levobupivacaine (LB) was used for both infraorbital and inferior alveolar blocks. Values are expressed as median and interquartile range. B, baseline value, prior to administration of oral blocks; BL, immediately after

administration of oral blocks; IV1, after one min of IV application of DEX or placebo; IV2, after two min/completion of IV application of DEX or placebo; LB+DEX IA, dogs ($n = 10$) which received LB and DEX perineurally into the submucosa at the opening of the mandibular foramen; LB+DEX IO, dogs ($n = 10$) which received LB and DEX perineurally into the infraorbital canal; LB+DEX IV, dogs ($n = 10$) which received LB perineurally and DEX IV (positive control); LB+PLC IV, dogs ($n = 10$) which received LB perineurally and placebo IV (negative control). * significant difference ($p < 0.05$) between the LB+PLC IV and LB+DEX IV groups. † significant difference ($p < 0.05$) between the LB+PLC IV and LB+DEX IA groups. ‡ significant difference ($p < 0.05$) between the LB+DEX IV and LB+DEX IA groups. § significant difference ($p < 0.05$) between the LB+DEX IV and LB+DEX IO groups.

V skupini LB+DEX IV se je frekvenca dihanja značilno znižala od 1 do 15 minut po koncu IV aplikacije. V skupini LB+PLC IV se frekvenca dihanja ni značilno spremenila po aplikaciji DEX. V skupini LB+DEX IO je bila frekvenca dihanja v primerjavi z bazalnimi vrednostmi nižja od 2 do 4 minute po koncu IV aplikacije. V skupini LB+DEX IA pa je bila frekvenca dihanja značilno nižja 3 in 8 do 20 minut po koncu IV aplikacije. Frekvenca dihanja je bila značilno nižja le v skupini LB+DEX IV v primerjavi s skupino LB+PLC IV 10 minut po koncu IV aplikacije. (Slika 8).



Slika 8: : Frekvenca dihanja pred in po aplikaciji deksmedetomidina (DEX) in/ali placeba s časovnimi točkami (5, 10, 15, 20, 25 in 30 minut), ki predstavljajo vrednosti po končani intravenski aplikaciji DEX ali placeba.

Levobupivakain (LB) smo uporabili za oba infraorbitalna in inferiorna alveolarna bloka. Vrednosti so izražene kot mediana in interkvartilni razmiki. B, bazalna vrednost pred aplikacijo oralnih blokov; BL, takoj po aplikaciji oralnih blokov; IV1, eno minuto po IV aplikaciji DEX ali placeba; IV2, dve minuti po IV aplikaciji DEX ali placeba; LB DEX IA, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB in DEX perinevralno v podsluznico ob odprtini mandibularne odprtine; LB+DEX IO, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB in DEX perinevralno v infraorbitalni kanal; LB+DEX IV, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB perinevralno in DEX IV (pozitivna kontrola); LB+PLC IV, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB perinevralno in placebo IV (negativna kontrola). * značilna razlika ($p < 0,05$) med skupinama LB+PLC IV in LB+DEX IV.

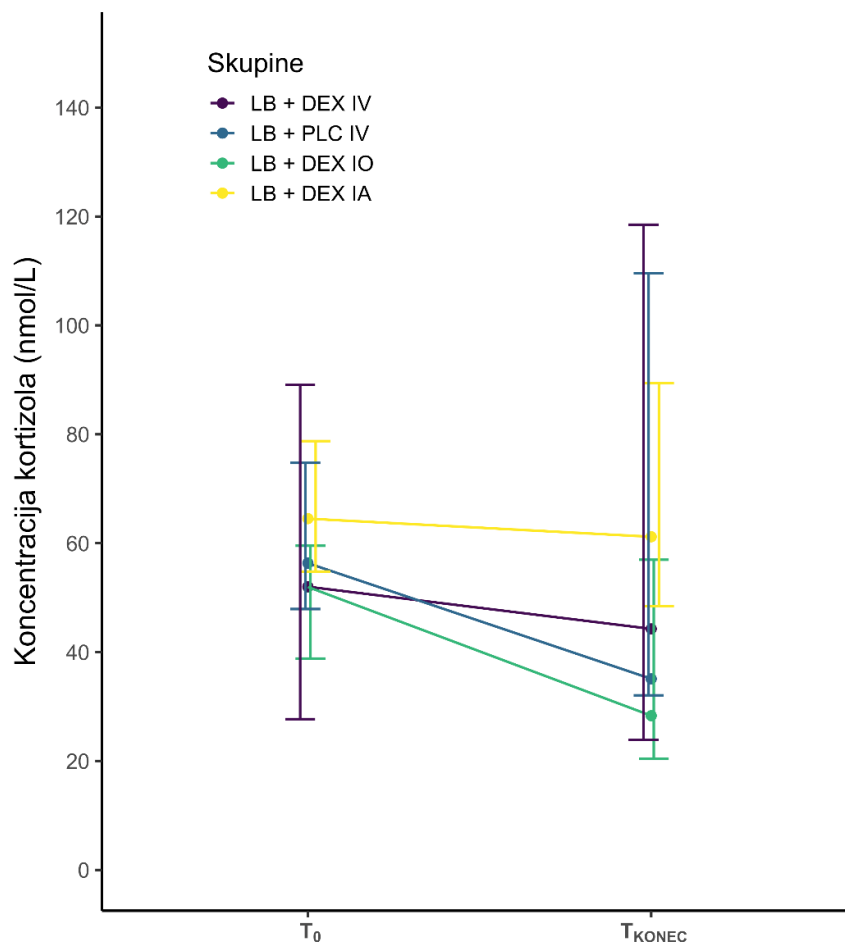
Figure 8: Respiratory rate before and after administration of dexmedetomidine (DEX) and/or placebo with time points (5, 10, 15, 20, 25, and 30 min) presenting values after completion of IV application of DEX or placebo.

Levobupivacaine (LB) was used for both infraorbital and inferior alveolar blocks. Values are expressed as median and interquartile range. B, baseline value, prior to administration of oral blocks; BL, immediately after administration of oral blocks; IV1, after one min of IV application of DEX or placebo; IV2, after two min/completion of IV application of DEX or placebo; LB+DEX IA, dogs ($n = 10$) which received LB and DEX

perineurally into the submucosa at the opening of the mandibular foramen; LB+DEX IO, dogs ($n = 10$) which received LB and DEX perineurally into the infraorbital canal; LB+DEX IV, dogs ($n = 10$) which received LB perineurally and DEX IV (positive control); LB+PLC IV, dogs ($n = 10$) which received LB perineurally and placebo IV (negative control). * significant difference ($p < 0.05$) between the LB+PLC IV and LB+DEX IV groups.

4.1.3 Koncentracija kortizola in glukoze v krvi

Med skupinami ni bilo značilnih razlik v koncentraciji kortizola v serumu ($\chi^2(3) = 2,75, p = 0,432$) in glukoze v krvi ($F(3) = 0,358, p = 0,784$) pred aplikacijo DEX. Koncentracija kortizola je bila na koncu posega neznatno nižja pri vseh skupinah psov (Slika 9). Koncentracija glukoze je bila v primerjavi s koncentracijo pred aplikacijo oralnih blokov znatno nižja na koncu posega le v skupini LB+DEX IA (Slika 10).



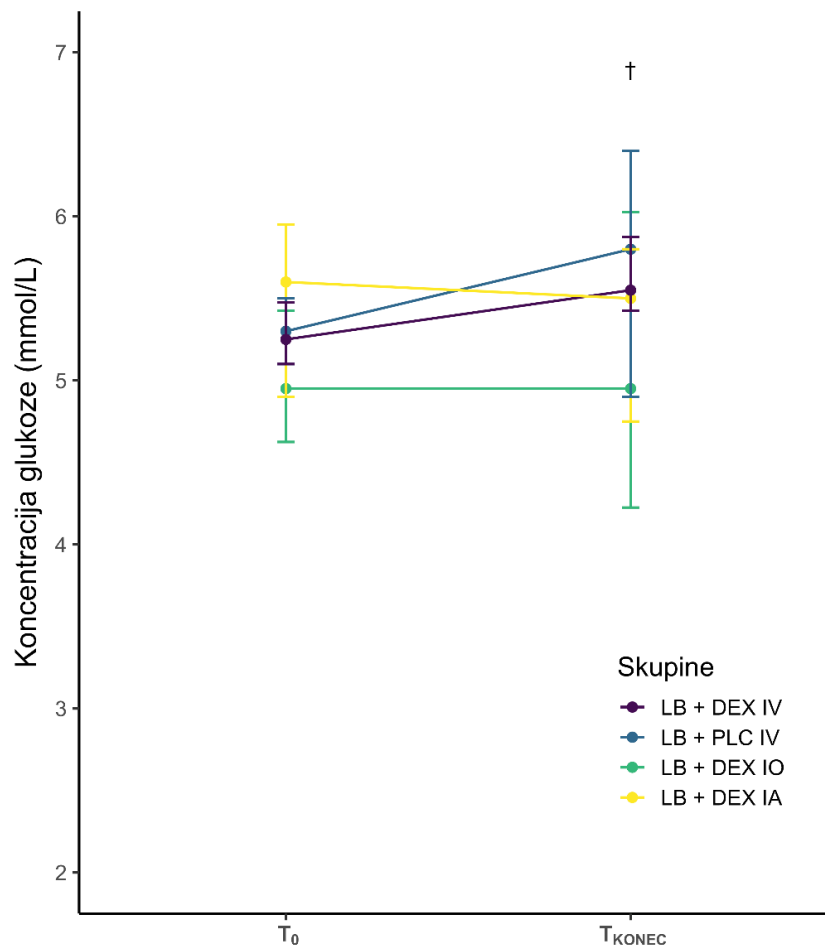
Slika 9: Koncentracija kortizola v serumu (nmol/L) pred aplikacijo oralnih blokov in na koncu posega.

Vrednosti so izražene kot mediana in interkvartilni razmiki. Levobupivakain (LB) smo uporabili za oba infraorbitalna in inferiorna alveolarna bloka. Placebo ali deksmedetomidin (DEX) smo aplicirali perinevralno ali intravensko (IV). LB+DEX IA, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB in DEX perinevralno v podsluznico ob odprtini mandibularne odprtine; LB+DEX IO, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB in DEX perinevralno v infraorbitalni kanal; LB+DEX IV, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB perinevralno in DEX IV (pozitivna kontrola); LB+PLC IV, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB perinevralno in placebo IV (negativna kontrola). T₀, časovna točka pred aplikacijo oralnih blokov (bazalna vrednost); T_{KONEC}, časovna točka na koncu posega.

Figure 9: Serum cortisol concentration (nmol/L) before administration of oral blocks and at the end of the dental procedure.

Values are expressed as median and interquartile range. Levobupivacaine (LB) was used for both infraorbital and inferior alveolar blocks. Placebo or dexmedetomidine (DEX) were administered perineurally or intravenously (IV). LB+DEX IA, dogs ($n = 10$) which received LB and DEX perineurally into the submucosa at the opening of the mandibular foramen; LB+DEX IO, dogs ($n = 10$) which received LB and DEX perineurally into the infraorbital canal; LB+DEX IV, dogs ($n = 10$) which received LB perineurally and DEX IV (positive control); LB+PLC IV,

dogs ($n = 10$) which received LB perineurally and placebo IV (negative control). T_0 , time point before administration of oral blocks; T_{KONEC} , time point at the end of the procedure.



Slika 10: Koncentracija glukoze v krvi (mmol/L) pred aplikacijo oralnih blokov in na koncu posega.

Vrednosti so izražene kot mediana in interkvartilni razmiki. Levobupivakain (LB) smo uporabili za oba infraorbitalna in inferiorna alveolarna bloka. Placebo ali deksmedetomidin (DEX) smo aplicirali perinevralno ali intravensko (IV). LB DEX IA, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB in DEX perinevralno v podsluznico ob odprtini mandibularne odprtine; LB+DEX IO, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB in DEX perinevralno v infraorbitalni kanal; LB+DEX IV, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB perinevralno in DEX IV (pozitivna kontrola); LB+PLC IV, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB perinevralno in placebo IV (negativna kontrola). T_0 , časovna točka pred aplikacijo oralnih blokov (bazalna vrednost); T_{KONEC} , časovna točka na koncu posega. † značilno nižja koncentracija v primerjavi z bazalno vrednostjo v skupini LB+DEX IA ($p < 0.05$).

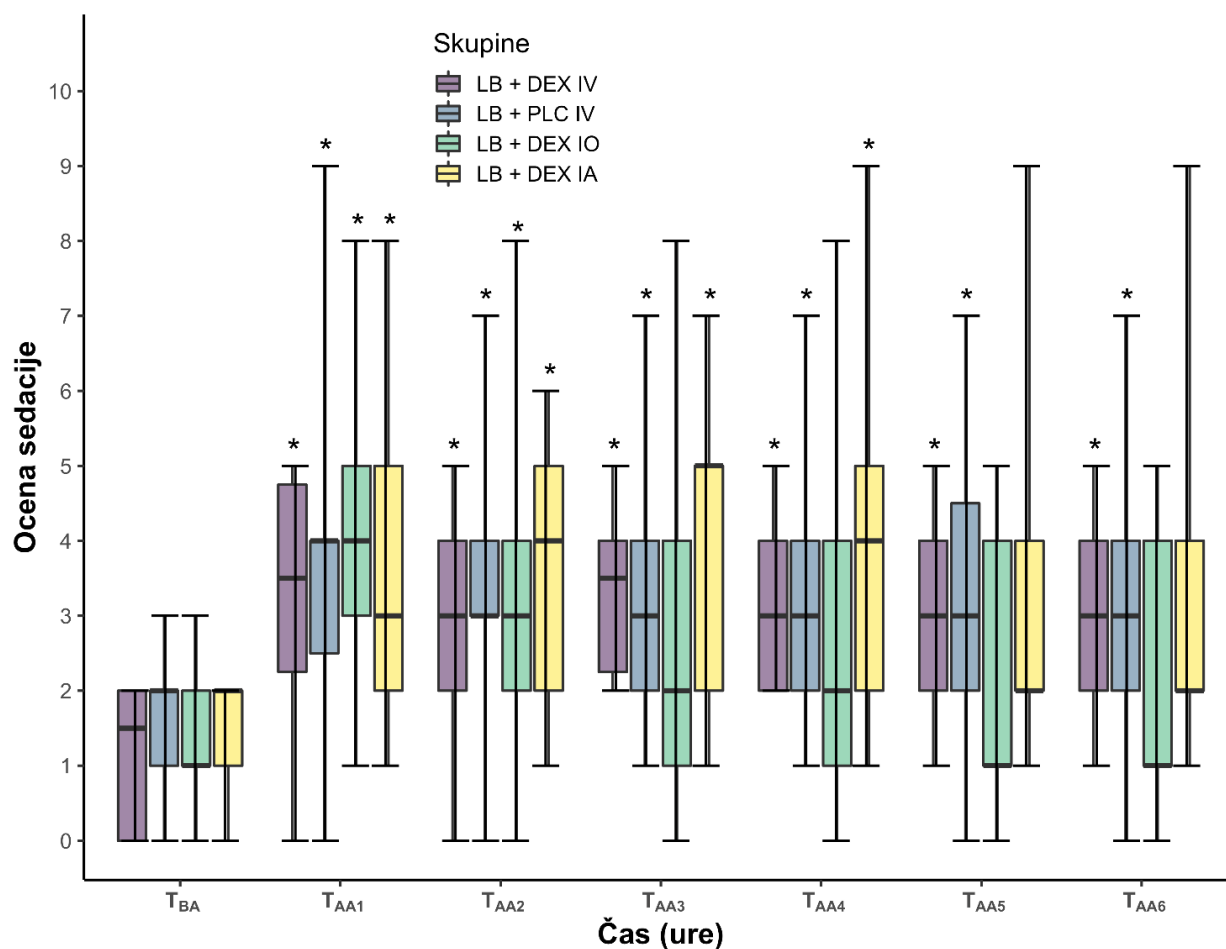
Figure 10: Blood glucose concentration (mmol/L) before administration of oral blocks and at the end of the dental procedure.

Values are expressed as median and interquartile range. Levobupivacaine (LB) was used for both infraorbital and inferior alveolar blocks. Placebo or dexmedetomidine (DEX) were administered perineurally or intravenously (IV). LB+DEX IA, dogs ($n = 10$) which received LB and DEX perineurally into the submucosa at the opening of the mandibular foramen; LB+DEX IO, dogs ($n = 10$) which received LB and DEX perineurally into the infraorbital

canal; LB+DEX IV, dogs ($n = 10$) which received LB perineurally and DEX IV (positive control); LB+PLC IV, dogs ($n = 10$) which received LB perineurally and placebo IV (negative control). T_0 , time point before administration of oral blocks; T_{KONEC} , time point at the end of the procedure. † significantly lower concentration compared to the baseline in the LB + DEX IA group ($p < 0.05$).

4.1.4 Ocena sedacije in obnašanja

Med skupinami ni bilo značilnih razlik v oceni sedacije ($\chi^2(3) = 1,607, p = 0,658$) in oceni obnašanja ($\chi^2(3) = 2,681, p = 0,443$) pred aplikacijo DEX. Ocena sedacije je bila v primerjavi z bazalno vrednostjo (pred posegom) v skupinah LB+DEX IV in LB+PLC IV značilno višja v celotnem ocenjevalnem obdobju. V skupini LB+DEX IO je bila ocena značilno višja le do dve uri po koncu anestezije, v skupini LB+DEX IA pa do štiri ure po koncu anestezije (Slika 11). Ocena obnašanja se pri nobeni skupini v nobeni časovni točki v celotnem ocenjevalnem obdobju ni razlikovala od bazalnih vrednosti (Slika 12).

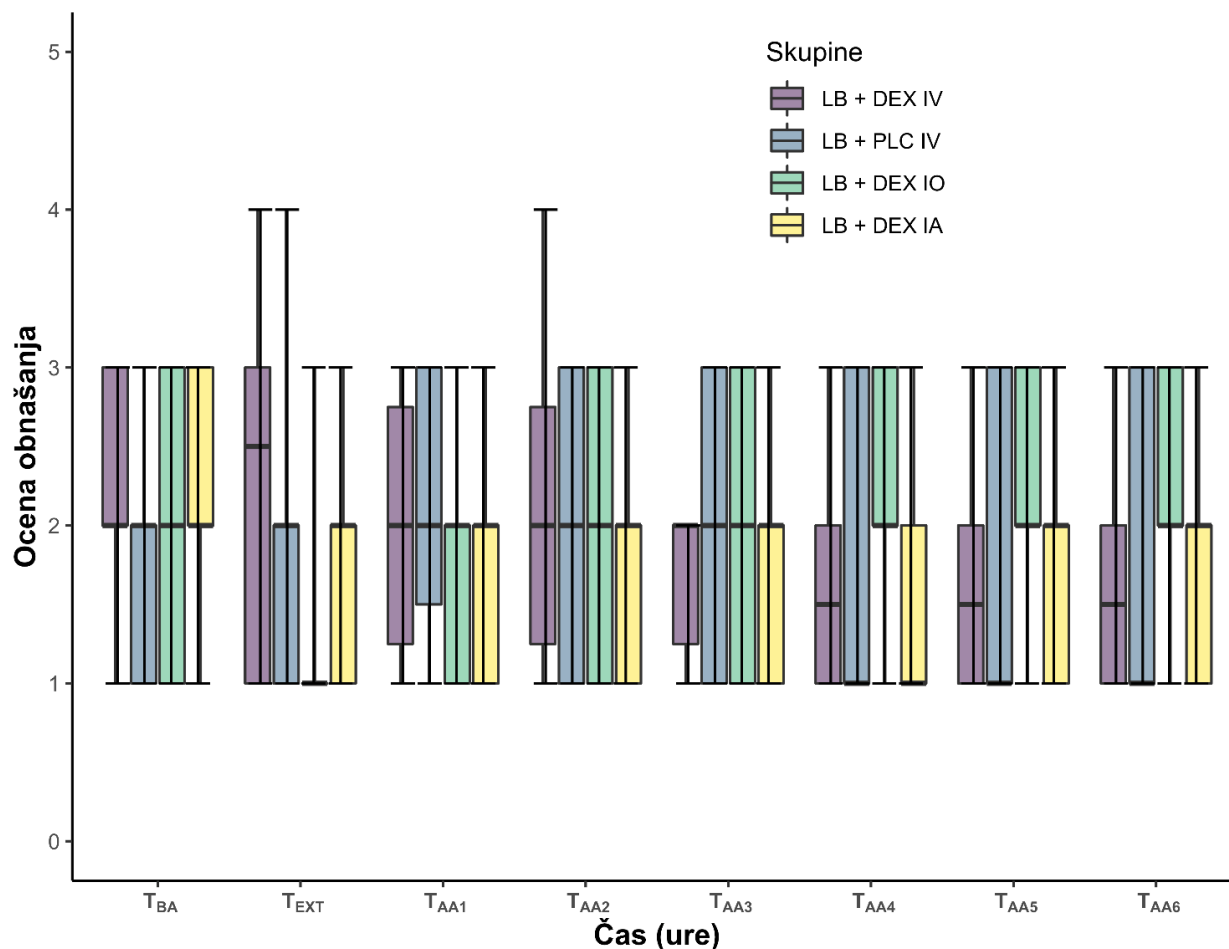


Slika 11: Ocena stopnje sedacije pred posegom in vsako uro do šest ur po koncu anestezije.

Vrednosti so izražene kot mediana in interkvartilni razmiki. Levobupivakain (LB) smo uporabili za oba infraorbitalna in inferiorna alveolarna bloka. Placebo ali deksmedetomidin (DEX) smo aplicirali perinevralno ali intravensko (IV). LB+DEX IA, psi ($n = 9$), ki smo jim aplicirali LB in DEX perinevralno v podsluznico ob odprtini mandibularne odprtine; LB+DEX IO, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB in DEX perinevralno v infraorbitalni kanal; LB+DEX IV, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB perinevralno in DEX IV (pozitivna kontrola); LB+PLC IV, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB perinevralno in placebo IV (negativna kontrola). T_{BA}, časovna točka pred posegom (bazalna vrednost); T_{AA1} to T_{AA6}, časovne točke od ene do šest ur po koncu anestezije. * značilno višja vrednost v primerjavi z bazalno vrednostjo ($p < 0.05$).

Figure 11: Sedation score recorded before anaesthesia and every hour after the end of the anaesthesia.

Values are expressed as median and interquartile range. Levobupivacaine (LB) was used for both infraorbital and inferior alveolar blocks. Placebo or dexmedetomidine (DEX) were administered perineurally or intravenously (IV). LB+DEX IA, dogs ($n = 9$) which received LB and DEX perineurally into the submucosa at the opening of the mandibular foramen; LB+DEX IO, dogs ($n = 10$) which received LB and DEX perineurally into the infraorbital canal; LB+DEX IV, dogs ($n = 10$) which received LB perineurally and DEX IV (positive control); LB+PLC IV, dogs ($n = 10$) which received LB perineurally and placebo IV (negative control). T_{BA}, time point before anaesthesia (baseline); T_{AA1} to T_{AA6}, time points from one to six hours after the end of anaesthesia. * significantly higher compared to the baseline (T_{BA}) ($p < 0.05$).



Slika 12: Ocena obnašanja pred posegom, po ekstubaciji in vsako uro do šest ur po koncu anestezije.

Vrednosti so izražene kot mediana in interkvartilni razmiki. Levobupivakain (LB) smo uporabili za oba infraorbitalna in inferiorna alveolarna bloka. Placebo ali deksmedetomidin (DEX) smo aplicirali perinevralno ali intravensko (IV). LB DEX IA, psi ($n = 9$), ki smo jim aplicirali LB in DEX perinevralno v podsluznico ob odprtini mandibularne odprtine; LB+DEX IO, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB in DEX perinevralno v infraorbitalni kanal; LB+DEX IV, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB perinevralno in DEX IV (pozitivna kontrola); LB+PLC IV, psi ($n = 10$), ki smo jim aplicirali LB perinevralno in placebo IV (negativna kontrola). T_{BA}, časovna točka pred posegom (bazalna vrednost); T_{EXT}, časovna točka po ekstubaciji; T_{AA1} to T_{AA6}, časovne točke od ene do šest ur po koncu anestezije.

Figure 12: Behaviour score recorded before anaesthesia, after extubation, and every hour after the end of the anaesthesia.

Values are expressed as median and interquartile range. Levobupivacaine (LB) was used for both infraorbital and inferior alveolar blocks. Placebo or dexmedetomidine (DEX) were administered perineurally or intravenously (IV). LB+DEX IA, dogs ($n = 9$) which received LB and DEX perineurally into the submucosa at the opening of the mandibular foramen; LB+DEX IO, dogs ($n = 10$) which received LB and DEX perineurally into the infraorbital canal; LB+DEX IV, dogs ($n = 10$) which received LB perineurally and DEX IV (positive control); LB+PLC IV, dogs ($n = 10$) which received LB perineurally and placebo IV (negative control).

dogs ($n = 10$) which received LB perineurally and placebo IV (negative control). T_{BA} , time point before anaesthesia (baseline); T_{EXT} , time point after extubation; T_{AA1} to T_{AA6} , time points from one to six hours after the end of anaesthesia.

4.1.5 Ocena bolečine v ustni votlini

Med skupinami ni bilo značilnih razlik v oceni bolečine pred posegom neglede na to, ali je bolečino ocenjeval anesteziist ($\chi^2(3) = 0,226, p = 0,973$), stomatolog ($\chi^2(3) = 2,170, p = 0,538$) ali lastnik ($\chi^2(3) = 2,971, p = 0,396$). Prav tako ni bilo značilnih razlik med skupinami 14 dni po posegu, ko sta bolečino ocenjevala anesteziist ($\chi^2(3) = 2,207, p = 0,531$) in lastnik ($\chi^2(3) = 8,245, p = 0,04$), medtem ko je stomatolog bolečino značilno višje ocenil pri skupini LB+DEX IV v primerjavi s skupino LB+DEX IA ($\chi^2(3) = 8,209, p = 0,04$).

Štirinajst dni po posegu je v primerjavi z oceno pred posegom bolečino značilno nižje ocenil le stomatolog, in sicer pri skupini LB+DEX IV (0 (0,75)), LB + PLC IV (1 (0,5)) in LB+DEX IA (3 (2)). Rezultati ocene bolečine po posegu so predstavljeni kot mediana (interkvartilni razmik).

4.2 Drugi del raziskave

Psi v drugem delu raziskave so bili stari 72 ± 43 mesecev (povprečje $\pm$ SD) in tehtali $25,2 \pm 7,8$ kg (povprečje $\pm$ SD). Med skupinami ni bilo pomembne razlike v telesni masi ($H(2) = 0,194, p = 0,91$), starosti ($H(2) = 1,312, p = 0,52$) in v razmerju med spoloma ($p = 0,26$, Fisherjev natančen test).

Tudi v tem delu raziskave nismo nobenemu psu aplicirali fentanila med posegom. Šestim psom v skupini LB IO, sedmim psom v skupini LB IA in šestim psom v skupini LB VSI (negativna kontrolna skupina iz prvega dela raziskave) pa smo morali poglobiti anestezijo s propofolom in/ali s povišanjem koncentracije vdihanega izoflurana.

4.2.1 Farmakokinetika levobupivakaina

Farmakokinetični parametri C_{max} , T_{max} in $AUC_{(0 \rightarrow 120 \text{ min})}$ so prikazani v Tabeli 2. V skupini LB IO je LB dosegel C_{max} v časovnem razponu 3 do 12 minut, v skupinah LB IA in LB VSI pa v časovnem razponu 3 do 17 minut po aplikaciji oralnih blokov. Čas do najvišje plazemske

koncentracije je bil najkrajši v skupini LB IA, sledili sta skupini LB IO in LB VSI, vendar razlike med skupinami niso bile značilne. Najvišja plazemska koncentracija LB je dosegla najvišjo vrednost v skupini LB VSI, sledili pa sta skupini LB IA in LB IO. V skupini LB VSI smo ugotovili značilno višje vrednosti v primerjavi z ostalima skupinama. Enako smo ugotovili tudi za AUC. Koncentracijo LB v odvisnosti od časa prikazuje Slika 13.

Tabela 2: Izračunani farmakokinetični parametri za levobupivakain.

Vrednosti so predstavljene kot mediana z interkvartilnimi razmiki. * $p < 0,05$ in **** $p < 0,0001$ značilno nižje vrednosti v primerjavi s skupino LB VSI (Kruskal–Wallisov test in Dunnov post-hoc test).

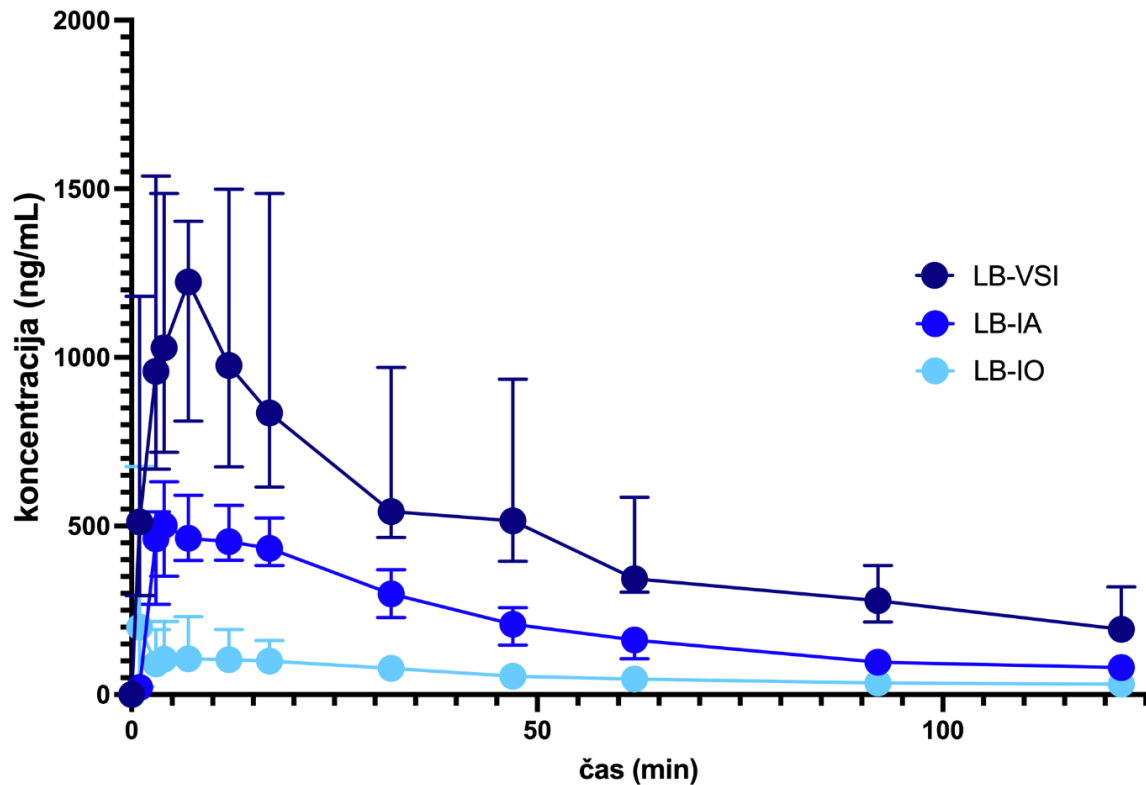
Table 2: The calculated pharmacokinetic parameters of levobupivacaine.

Values are presented as median with interquartile range. * $p < 0.05$ and **** $p < 0.0001$ significantly lower compared to the LB ALL group (Kruskal–Wallis test and Dunn’s post-hoc test).

	LB VSI	LB IA	LB IO
Število psov, n	10	10	10
$C_{\max}$ (ng/mL)	1,335 (1,030–1,929)	601 (488–652)*	108 (94–242)****
$T_{\max}$ (min)	7 (4–9.5)	4 (3–9.5)	5.5 (3.75–8.25)
$AUC_{(0 \rightarrow 120)}$ (ng/mL x min)	57,976 (44,954–96,224)	25,457 (19,200–28,872)*	6,595 (5,353–10,308)****

$AUC_{(0 \rightarrow 120 \text{ min})}$, površina pod krivuljo od časovne točke 0 do zadnje merljive časovne točke (120 min); $C_{\max}$, najvišja plazemska koncentracija; IA, inferiorni alveolarni blok; IO, infraorbitalni blok; LB, levobupivakain; $T_{\max}$, čas do najvišje plazemske koncentracije.

$AUC_{(0 \rightarrow 120 \text{ min})}$, the area under the curve from time point 0 to the last quantifiable data point (120 min); $C_{\max}$, maximum plasma concentration; IA, inferior alveolar block; IO, infraorbital block; LB, levobupivacaine; $T_{\max}$, time to reach maximum plasma concentration.



Slika 13: Koncentracija 0,5 % levobupivakaina (LB) v krvi v odvisnosti od časa apliciranega perinevralno.

Koncentracija 0,5 % levobupivakaina (LB) v krvi v odvisnosti od časa, apliciranega perinevralno na en kvadrant kot infraorbitalni blok ($n = 10$, LB IO) ali inferiorni alveolarni blok ($n = 10$, skupina LB IA) ali na vse štiri kvadrante kot oba infraorbitalna in inferiorna alveolarna bloka ($n = 10$, skupina LB VSI). Pse smo premedicirali z metadonom intravensko, v anestezijo smo jih uvedli s propofolom in anestezijo vzdrževali z izofluranom v kisiku. Odmerek LB je bil 0,11 mL/kg^{2/3} za infraorbitalni blok in 0,18 mL/kg^{2/3} za IA blok. Podatki so predstavljeni kot mediana z interkvartilnimi razmiki.

Figure 13: Concentration-vs.-time profile of levobupivacaine (LB) 0.5% injected perineurally.

Concentration-vs.-time profile of levobupivacaine (LB) 0.5% injected perineurally as a single infraorbital block ($n = 10$, LB IO) or single inferior alveolar block ($n = 10$, LB IA group) or both infraorbital and inferior alveolar blocks ($n = 10$, LB VSI group). Dogs were premedicated with methadone intravenously, and anaesthesia was induced with propofol and maintained with isoflurane in oxygen. The dose of LB was calculated as 0.11 mL/kg^{2/3} for the infraorbital block and 0.18 mL/kg^{2/3} for the IA block. The data are presented as median with interquartile range.

5 RAZPRAVA

V prvem delu raziskave smo preučevali farmakokinetiko DEX in odziv obtočil na aplikacijo DEX v IO kanal ali v podsluznico v bližini vhoda v mandibularni kanal ter ju primerjali z IV aplikacijo. Zanimalo nas je tudi, ali DEX kot adjuvantni analgetik k področni anesteziji z LB omeji stresni odziv zaradi anestezije in stomatološkega posega.

Pri perinevralni aplikaciji DEX je bila $C_{\max}$ neznačilno nižja, $T_{\max}$ pa neznačilno krajši v skupini LB+DEX IO v primerjavi s skupino LB+DEX IA. Za primerjavo: pri psih s telesno maso $14,6 \pm 1,5$ kg sta bili širina in višina IO kanala na najožji točki $3,1 \pm 0,2$ mm in $3,6 \pm 0,2$ mm (Viscasillas in sod., 2013). Volumen LB, ki smo ga uporabili v naši raziskavi, je bil pri 15 kg psu 0,68 mL, čemur smo dodali še 7,5 μ g DEX (0,2 mL razredčitve, saj je koncentracija DEX 500 μ g/mL in ga je za natančnejše odmerjanje potrebno redčiti). Kljub temu, da nismo merili pritiska v IO kanalu, menimo, da je aplikacija zdravil povečala pritisk v IO kanalu, kar je povzročilo hitrejšo absorpcijo v primerjavi z aplikacijo v podsluznico pri IA bloku. Po drugi strani pa bi lahko bili višja $C_{\max}$, boljša biološka razpoložljivost (večja $AUC_{(0 \rightarrow 120 \text{ min})}$) in hitrejša eliminacija (trikrat krajši razpolovni čas) po IA aplikaciji posledica večje ožiljenosti in boljše prekrvljenosti podsluznice v bližini vhoda v mandibularni kanal.

Pri perinevralni aplikaciji DEX je bil $t_{1/2}$ značilno daljši, $AUC_{(0 \rightarrow 120 \text{ min})}$ pa značilno manjša v primerjavi z IV aplikacijo. Proces absorpcije je pri ekstravaskularni aplikaciji omejevalni dejavnik, saj končni $t_{1/2}$ odraža hitrost in obseg absorpcije in ne procesa eliminacije (Toutain in Bousquet-Melou, 2004). Biološka razpoložljivost je bila po IO aplikaciji 48 %, po IA aplikaciji pa 56 % in je bila v obeh primerih manjša kot pri intramuskularni (IM) aplikaciji (60 %) (EPAR, 2022), vendar še vedno večja v primerjavi z aplikacijo preko ustne sluznice (11,2 % in 16,34 %) (Dent in sod., 2019; Di Cesare in sod., 2019).

Koncentracija DEX v krvni plazmi se je po IV aplikaciji eksponentno znižala. Velika standardna napaka koncentracije DEX po eni minuti od aplikacije odraža prekrivanje faz distribucije in eliminacije DEX, medtem ko je po petih minutah faza eliminacije že prevladovala in se je standardna napaka zmanjšala. Deksmetomidin lahko odvisno od odmerka zmanjša lastno fazo eliminacije, kot je bilo ugotovljeno pri prostovoljcih, predvsem zaradi zmanjšane minutnega volumna srca (Dutta in sod., 2000), kar se pokaže v zmanjšanem pretoku krvi skozi jetra in počasnejši presnovi DEX. Podaljšan $t_{1/2}$ je pričakovan pri višjih odmerkih in pri predoziranju ali ko se DEX aplicira skupaj z učinkovinami, ki vplivajo na krvni

pretok v jetrih (EPAR, 2022). V naši raziskavi so bili psi anestezirani z izofluranom, ki odvisno od odmerka zmanjša minutni volumen srca (Avram in sod., 2000). Deksmetomidin nasprotuje vazodilatativnim učinkom izoflurana in stabilizira tonus krvnih žil (Di Bella in sod., 2020). Po drugi strani pa lahko izofluran oslabi povečanje sistemskega žilnega odpora vsled DEX (Kersten in sod., 1993; Grasso in sod., 2015). V naši raziskavi nismo merili minutnega volumna srca, vendar bi lahko krajši $t_{1/2}$ in večji očistek v primerjavi z 10-krat (Dent in sod., 2019) in 40-krat (Kuusela in sod., 2000) večjimi odmerki DEX, ki so jih uporabili pri neanesteziranih psih nakazovala, da krvni obtok v jetrih ni bil zmanjšan zaradi pozitivnega medsebojnega vpliva med nizkim odmerkom DEX in izofluranom.

Volumen distribucije DEX v naši raziskavi je bil manjši kot v raziskavi, kjer so uporabili 10-krat (Dent in sod., 2019) in 40-krat (Kuusela in sod., 2000) večje odmerke DEX, in odraža zanemarljivo distribucijo DEX iz centralnega v periferni razdelek, DEX pa se je večinoma prerazporedil v plazmo in izvencelično tekočino. Deksmetomidin je lipofilna učinkovina, ki se v 94 % veže na albumin in α_1 -glikoprotein v krvni plazmi (Weerink in sod., 2017). V naši raziskavi je bila $AUC_{(0 \rightarrow 120 \text{ min})}$ po IV aplikaciji $42,11 \pm 5,01 \text{ ng min/mL}$. Pri psih, ki prejeli 10-krat večji odmerek DEX, je $AUC_{(0 \rightarrow \text{inf})}$ znašala $655 \pm 148 \text{ ng min/mL}$ (Dent in sod., 2019), kar kaže da je plazemska koncentracija DEX neposredno odvisna od odmerka.

Odziv obtočil na aplikacijo DEX je bil skladen z že do zdaj objavljenimi podatki (Weerink in sod., 2017; Dent in sod., 2019; Akashi in sod., 2021). V placebo skupini se vrednosti frekvence srca (razen minuto po aplikaciji placeba), srednjega arterijskega tlaka in frekvence dihanja niso razlikovale od bazalnih vrednosti. V ostalih skupinah so se frekvenca srca, srednji arterijski tlak in frekvenca dihanja značilno spremenili v določenih časovnih točkah, ko sta bili frekvenca srca in dihanja nižji, srednji arterijski tlak pa višji v primerjavi z bazalnimi vrednostmi. Pri psih, anesteziranih z izofluranom (Weerink in sod., 2017) ali sevofluranom (Akashi in sod., 2021), so po IV aplikaciji DEX v odmerku $0,5 \text{ } \mu\text{g/kg}$ ugotovili zvišanje arterijskega tlaka in znižanje frekvence srca. Znižanje frekvence srca in dihanja so potrdili tudi pri neanesteziranih psih, ki so jim IV aplicirali 10-krat višji odmerek DEX v primerjavi z našo raziskavo (Kuusela in sod., 2000). Atrioventrikularni blok druge stopnje smo največkrat opazili pri psih, ki smo jim DEX aplicirali IV in so bili v neposredni povezavi s plazemsko koncentracijo DEX. Ti rezultati so v skladu z do zdaj že objavljenimi raziskavami (Kuusela in sod., 2002; Congdon in sod., 2011), kjer so ugotovili AV bloke druge stopnje po IM aplikaciji DEX v odmerku $10 \text{ } \mu\text{g/kg}$.

Pri psih, ki so prejeli DEX IV ali perinevralno, je bila frekvenca srca nižja v primerjavi s placebo skupino, medtem ko je bil srednji arterijski tlak višji le pri LB+DEX IV in LB+DEX IA skupini. Podobno so nižjo frekvenco srca in višji sistolični tlak v primerjavi s kontrolno skupino ugotovili pri psih, anesteziranih s sevofluranom, ki so jim aplicirali DEX v odmerku 0,5 µg/kg IV (Akashi in sod., 2021). Odziv obtočil na DEX je pri psih posledica aktivacije postsinaptičnih adrenergičnih receptorjev α_2 v gladkih mišicah perifernih žil, kar se odraža kot periferna vazokonstrikcija. Začetno zvišanje krvnega tlaka je povezano s povečanjem tonusa *nervusa vagusa* in bradikardijo (Murrell in Hellebrekers, 2005). Medetomidin, racemna zmes dveh optičnih izomer levomedetomidina in deksmedetomidina, apliciran v odmerkih od 1 do 20 µg/kg IV, je povzročil podobne spremembe v odzivu obtočil, ki pa so bile manj očitne pri nižjih odmerkih (1 do 2 µg/kg) (Pypendop in Verstegen, 1998).

Neznačilna razlika v frekvenci srca in srednjem arterijskem tlaku med skupinama LB+DEX IV in LB+DEX IA v primerjavi z LB+DEX IO skupino je bila posledica višje plazemske koncentracije DEX (več kot 10-krat višja C_{max} po IV aplikaciji in več kot 1,5-krat višja C_{max} po IA aplikaciji). Večjo biološko razpoložljivost po IA aplikaciji lahko pripišemo boljši absorpciji DEX po aplikaciji v dobro prekrvljeno podsluznico v bližini vhoda v mandibularni kanal. Najvišji srednji arterijski tlak in najnižja frekvenca srca in dihanja v skupini LB+DEX IO so bili ugotovljeni prej kot v skupini LB+DEX IA, kar se ujema z neznačilno krajšim T_{max} v skupini LB+DEX IO. Menimo, da se je to zgodilo zaradi povečane sile gradienta tlaka v stenah žil nemudoma po aplikaciji DEX v IO kanal. Začetna nihanja v odzivu obtočil po aplikaciji oralnih blokov lahko pri vseh psih pripišemo nociceptivnemu dražljaju zaradi stomatološkega posega in časa do začetka delovanja senzornega bloka LB (po navadi manj kot 15 minut po perinevralni aplikaciji) (Heppolette in sod., 2020).

Začetno koncentracijo kortizola v serumu smo zaradi časa, ki smo ga potrebovali za vstavitev arterijske kanile, izmerili šele, ko so bili psi že vsaj 10 minut v splošni anesteziji z izofluranom. Ni nujno, da se je ta vrednost razlikovala od vrednosti pred uvodom v splošno anestezijo, saj je mogoče, da je bila koncentracija kortizola povišana že takrat zaradi stresa, ki ga živali povzroči okolje klinike (Fox in sod., 1998), podobno kot pri psih, pri katerih niso opazili značilnih razlik v koncentraciji kortizola v serumu pred uvodom v anestezijo s propofolom in po intubaciji in vzdrževanju anestezije z izofluranom (Romano in sod., 2019).

Koncentracija kortizola v serumu je bila pri vseh skupinah na koncu posega neznačilno nižja v primerjavi z vrednostmi pred aplikacijo oralnih blokov in je bolj verjetno posledica aplikacije LB in ne DEX, saj ni bilo razlike med placebo skupino in skupinami, ki so prejele DEX. Znano je, da medetomidin zmanjša ali celo prepreči odziv nadledvične žleze na kirurško stimulacijo (Benson in sod., 2000; Ko in sod., 2000). Do neznačilnih razlik med placebo in DEX skupinami v naši raziskavi je najverjetneje prišlo zaradi zelo nizkega odmerka DEX (0,5 µg/kg) v primerjavi s prej omenjenima raziskavama, kjer so uporabili 7,5-krat in 20-krat večje odmerke. V raziskavi, kjer so pri psih, anesteziranih z izofluranom, uporabili bupivakain za oba IO in IA bloka, se je koncentracija kortizola v serumu značilno znižala v primerjavi z bazalnimi vrednostmi (Raušer in Fichtel, 2020). Področna anestezija kolena (blok femoralnega in ishiadičnega živca) z bupivakainom je preprečila povečanje kortizola pri psih, anesteziranih z izofluranom, za razliko od tistih, ki so jim namesto področne anestezije aplicirali infuzijo fentanila (Romano in sod., 2016).

Koncentracija glukoze v krvi se je na koncu posega neznačilno povišala pri LB+DEX IV in placebo skupini. Pri perinevralni aplikaciji DEX pa je prišlo do zavora glikemičnega odziva, saj se koncentracija glukoze pri LB+DEX IO skupini ni povišala, pri LB+DEX IA skupini pa se je celo značilno znižala. Menimo, da je bil DEX vzrok za zavor glikemičnega odziva, saj je bila koncentracija glukoze na koncu posega najvišja v placebo skupini, ki ni prejela DEX. Zavor glikemičnega odziva pri LB+DEX IV skupini je bil verjetno kratkotrajen zaradi značilno krajšega $t_{1/2}$ pri tej skupini v primerjavi z LB+DEX IO in LB+DEX IA skupinama (Pavlica in sod., 2022). Morda je tudi boljša biološka razpoložljivost DEX v skupini LB+DEX IA v primerjavi s skupino LB+DEX IO (Pavlica in sod., 2022) pripomogla k zavoru glikemičnega odziva z značilno nižjo koncentracijo glukoze na koncu posega.

Ocenjena sedacija je bila v primerjavi z bazalnimi vrednostmi pri vseh skupinah značilno višja do dve uri po koncu anestezije. Do konca ocenjevalnega obdobja je bila značilno višja le pri LB+DEX IV in placebo skupini. Dalj časa trajajoče sedacije pri psih, ki so prejeli DEX IV, ne moremo pripisati vplivu anestetikov, saj je bil čas anestezije značilno krajši pri tej skupini kot pri LB+DEX IO skupini, pri kateri je bila ocena sedacije značilno višja le do dve uri po koncu anestezije. Predvidevamo, da bi lahko bil vzrok napačna interpretacija vedenja, s katerim psi izražajo bolečino, in je bila zato sedacija ocenjena višje pri LB+DEX IV in placebo skupini, žival pa je bila v resnici bolj mirna zaradi bolečine (Seliškar in sod., 2005). Značilno krajši $t_{1/2}$ DEX pri psih, ki so prejeli zdravilo IV v primerjavi s perinevralno aplikacijo (IO in IA) (Pavlica in sod., 2022), pa je pripomogel h krajšemu analgetičnemu učinku in bi lahko bil vzrok za

značilno višjo oceno sedacije do konca ocenjevalnega obdobja pri LB+DEX IV skupini. Odmerek DEX v naši raziskavi je bil 20-krat nižji od odmerka, ki so ga uporabili Kuusela in sod. (2000), kjer so maksimalni analgetični učinek ugotovili 10 do 20 minut po IV aplikaciji, trajal pa je do dve uri po IV aplikaciji.

Pri nobeni skupini psov nismo v primerjavi z bazalnimi vrednostmi opazili značilnih sprememb v oceni obnašanja do konca ocenjevalnega obdobja. Razlog je najverjetneje področna anestezija z LB, saj ni bilo razlike med psi, ki so prejeli DEX (IV ali perinevralno) in placebo skupino. Med anestezijo pri nobenem psu ni bilo potrebe po dodatni analgeziji, kar kaže na to, da smo s področno anestezijo ustrezno omrtvičili ustno votlino in preprečili nocicepcijo ter hiperalgezijo v pooperacijskem obdobju. Naše izsledke potrjujejo rezultati raziskave, kjer so ugotovili značilno višjo oceno obnašanja po operaciji kolena pri psih, ki so jim med posegom injicirali fentanil v obliki konstantne infuzije v primerjavi s psi, pri katerih so dosegli omrtvičenje operacijskega polja s področnim blokom ali epiduralno anestezijo z bupivakainom (Romano in sod., 2016).

Stopnjo bolečine v ustni votlini je 14 dni po posegu značilno nižje kot pred posegom ocenil le stomatolog. V skupno oceno bolečine so bila vključena tudi opažanja, ki zahtevajo specialistično stomatološko znanje, kot so atrofija/oteklina žvekalnih mišic, zabarvanost zob, hipokalcifikacija ali hipoplazija sklenine, hiperplazija dlesni ali prisotnost tumorjev in drenažni trakti na dlesnih ali sluznici ustne votline, ki jih specialist stomatologije prej prepozna v primerjavi z anesteziatom ali lastnikom. Za razliko od naše raziskave pa DeRose in Hale (2022) poročata, da so lastniki psov v 92,7 % poročali o izboljšanju kvalitete življenja po ekstrakciji zob celotne ustne votline. Menimo, da je razlog v tem, da smo v našo raziskavo vključili predvsem mlajše pse večjih pasem (starost 59 ± 43 mesecev in teža $25,2 \pm 9,8$ kg), pri katerih multiple ekstrakcije zob niso tako pogoste v primerjavi z manjšimi pasmami (Wallis in Holcombe, 2020), posegi pa so bili manj invazivni kot v raziskavi DeRose in Hale (2022).

Glavna omejitev prvega dela raziskave je bil nestandardiziran stomatološki poseg, ki je trajal različno dolgo. Kljub temu, da so bili vsi vzorci krvi odvzeti do 120 minut po IV aplikaciji DEX ali placeba, smo v statistično analizo odziva obtočil na DEX vključili le podatke, ki smo jih pridobili do 30 minut po aplikaciji. Glede na izračun moči študije je bilo potrebno vključiti v vsako skupino najmanj pet psov, kar smo lahko zagotovili le prvih 30 minut po aplikaciji DEX. Pri nekaterih psih je bil stomatološki poseg sorazmerno kratek in anestezije ne bi bilo etično podaljševati zgolj zaradi potreb raziskave. Kljub temu smo vzorčili kri pri vseh psih do 120 minut po IV aplikaciji, vendar smo pri nekaterih psih zadnje vzorce krvi odvzeli že po tem, ko

so se prebudili iz anestezije, kar bi lahko vplivalo na farmakokinetiko DEX v primerjavi z anesteziranimi živalmi. Zaradi različno dolge anestezije drugi vzorec krvi za določanje koncentracije kortizola in glukoze ni bili odvzeti vedno v enakem časovnem razponu glede na prvi odvzem. Skupna količina odvzete krvi je bila 60 mL, zato v raziskavo nismo vključili psov, ki so tehtali manj kot 10 kg. Kljub temu, da je bila raziskava dvojno slepa, bi bilo smiselno zaradi večje objektivnosti vključiti še tretjega ocenjevalca, ki bi ocenil stopnjo sedacije in obnašanje pred in po posegu.

V drugem delu raziskave smo preučevali farmakokinetiko LB po aplikaciji na en kvadrant ali na vse štiri kvadrante ustne votline ter ali se pri slednji odmerki približa vrednostim, ki bi lahko izzvale neželene učinke.

Kumulativni odmerek in plazemska koncentracija LB, pri kateri pride do nevrotoksičnosti in kardiotoxičnosti pri podganah, ovcah in psih, sta znana (Ohmura in sod., 2001; Chang in sod., 2000; Groban in sod., 2001). Povprečna skupna in prosta plazemska koncentracija pri psih, ki so jim aplicirali LB IV, sta bili pri zastoju srca 22700 ng/mL in 9400 ng/mL, povprečni kumulativni odmerek pri srčnem zastoju pri anesteziranih psih pa je bil $27,3 \pm 2,0$ mg/kg (Groban in sod., 2001). Najvišja plazemska koncentracija LB pri psih, ki smo jim aplicirali LB na vse štiri kvadrante ustne votline, je bila $1213 \pm 69,8$ ng/mL, kar je približno 19-krat manj v primerjavi s koncentracijo, ki je pri anesteziranih psih povzročila srčni zastoj po IV aplikaciji (Groban in sod., 2001). To potrjuje, da je verjetnost za resnejše neželene učinke perinevralne aplikacije LB v kumulativnem odmerku do 2 mg/kg izredno majhna.

Značilna razlika $C_{\max}$ in $AUC_{(0 \rightarrow 120 \text{ min})}$ LB je bila pri primerjavi aplikacije na enega ali na vse štiri kvadrante ustne votline pričakovana, vendar vrednosti niso bile neposredno odvisne od odmerka. To povezujemo z drugačno potjo aplikacije in s tem povezanimi razlikami v prekrvljenosti tkiva in absorpciji v IO kanalu in podsluznici v bližini IA živca. Tudi vazoaktivne lastnosti LB lahko privedejo do razlike v absorpciji, saj ta povzroči vazodilatacijo pri višjih koncentracijah in vazokonstrikcijo pri nižjih koncentracijah (Newton in sod., 2005).

Pri aplikaciji LB v IO kanal $T_{\max}$ ni bil značilno krajši v primerjavi z aplikacijo v podsluznico v bližini vhoda v mandibularni kanal. Vrednosti koncentracije LB pri aplikaciji v IO kanal so bile porazdeljene nenormalno, medtem ko so bile vrednosti pri aplikaciji IA bloka porazdeljene normalno, kar je otežilo primerjavo med skupinama. Menimo, da so interindividualne razlike v širini IO kanala in pritiska v njem po aplikaciji LB privedle do nenormalne porazdelitve podatkov pri IO aplikaciji.

Psi v naši raziskavi so bili anestezirani z izofluranom, kar bi lahko vplivalo na farmakokinetiko LB v primerjavi z neanesteziranimi živalmi. Tako so pri ovcah, ki so bile anestezirane s halotanom in so jim aplicirali 125 mg LB IV v treh minutah, izmerili dvakrat višjo koncentracijo LB v krvi v primerjavi z neanesteziranimi ovcami. Tudi T_{max} je bil daljši pri anesteziranih ovcah (Copeland in sod., 2008). Podobno so pri mačkah, ki so bile anestezirane z izofluranom, po IV odmerku lidokaina 2 mg/kg ugotovili dvakrat višjo plazemsko koncentracijo lidokaina kot pri neanesteziranih živalih (Thomasy in sod., 2005).

Tudi v drugem delu raziskave je bila glavna omejitev nestandardiziran stomatološki poseg, saj se je pri nekaterih psih končal, še preden smo odvzeli zadnji vzorec krvi. V tem primeru smo vzorec krvi odvzeli pri zavestnih živalih, kar bi lahko vplivalo na farmakokinetiko LB v primerjavi z anesteziranimi živalmi. Skupna količina krvi, ki smo jo odvzeli za potrebe raziskave, je bila 60 mL, zato v raziskavo nismo vključili psov, ki so tehtali manj kot 10 kg.

6 SKLEPI

1. Hipoteza, da bo aplikacija DEX v IO kanal privedla do hitrejše in večje sistemske absorpcije v primerjavi z aplikacijo DEX v podsluznico v bližini vhoda v mandibularni kanal ni bila potrjena, saj nismo ugotovili značilnih razlik v $C_{\max}$ in $T_{\max}$ med skupinama LB+DEX IO in LB+DEX IA.
2. Prav tako smo ovrgli hipotezo, da se bo arterijski tlak bolj in prej zvečal, frekvenca srca pa bolj in prej zmanjšala pri aplikaciji DEX v IO kanal v primerjavi z aplikacijo DEX v podsluznico v bližini vhoda v mandibularni kanal, saj med skupinama LB+DEX IO in LB+DEX IA nismo ugotovili značilnih razlik v srednjem arterijskem tlaku in frekvenci srca.
3. Podobno kot DEX, tudi aplikacija LB v IO kanal ni privedla do hitrejše in večje sistemske absorpcije v primerjavi z aplikacijo v podsluznico v bližini vhoda v mandibularni kanal. Tako hipoteze nismo potrdili, saj ni bilo značilne razlike v $C_{\max}$ in $T_{\max}$ med skupinama LB-IO in LB-IA.
4. Hipoteza, da bo DEX kot adjuvantni analgetik omejil odgovor organizma na stres zaradi anestezije in stomatološkega posega, ko ga apliciramo perinevralno ali IV, ni bila potrjena. Najverjetneje je razlog zelo majhen odmerek DEX.
5. Potrdili pa smo hipotezo, da področna anestezija pripomore k hitrejšemu okrevanju in izboljšanju kvalitete življenja po stomatološkemu posegu, vendar le, kadar je to ocenjeval stomatolog.

Z rezultati raziskave smo ne glede na zgoraj zapisane zaključke ugotovili, da je perinevralna aplikacija DEX primernejša od IV aplikacije zaradi manjšega vpliva na obtočila. Prav tako smo ugotovili, da je po perinevralni aplikaciji LB na vse štiri kvadrante ustne votline pri psih, v odmerkih, uporabljenih v tej raziskavi, majhna verjetnost za neželene učinke LB, saj je bil $C_{\max}$ v skupini LB-VSI približno 20-krat nižji od plazemske koncentracije, pri kateri se izrazi kardiotsičnost.

Izsledki naše raziskave bodo pripomogli k izboljšanju varnosti področne anestezije ustne votline psov in s tem kvalitetnejše med- in pooperacijske obravnave psov z boleznimi zob in obzobnih tkiv.

7 POVZETEK

Multimodalni pristop k preprečevanju bolečine vključuje uporabo različnih vrst analgetikov pred, med in po kirurškem posegu. Področna anestezija je metoda, pri kateri s perinevralno aplikacijo lokalnih anestetikov (LA) blokiramo prenos bolečine v osrednje živčevje. Pri stomatoloških posegih pri psih se za omrtvičenje ustne votline najpogosteje uporabljata infraorbitalni in inferiorni alveolarni blok. Z aplikacijo LA v infraorbitalni kanal zagotovimo področno anestezijo ipsilateralne strani zgornje čeljusti. Z aplikacijo LA v podsluznico ob vhodu v mandibularni kanal, kjer inferiorni alveolarni živec vstopa v spodnjo čeljust, pa zagotovimo področno anestezijo ipsilateralne strani spodnje čeljusti. Od LA se vedno pogosteje uporablja levobupivakain (LB), ki učinkuje podobno kot bupivakain, vendar je manj kardiotoksičen. Za podaljšanje časa delovanja senzornega bloka se LA lahko kombinira z agonisti adrenergičnih receptorjev α_2 , kot je deksmedetomidin (DEX). Deksmetomidin je desnosučna izomera medetomidina. Pri psih so neželeni učinki DEX odvisni od odmerka, najpogostejša pa sta hipertenzija in bradikardija.

Primarni namen raziskave je bil pridobiti vpogled v farmakokinetiko LB in DEX ter srčno-žilni odgovor obtočil na perinevralno aplikacijo (IO in IA blok) obeh učinkovin. Sekundarni namen raziskave je bil ugotoviti, ali DEX kot adjuvantni analgetik omeji odgovor organizma na stres in ali se odgovor organizma razlikuje glede na mesto aplikacije (perinevralna ali IV).

V prvi del raziskave je bilo vključenih 40 psov, ki so bili naključno razdeljeni v štiri skupine. Vsem psom smo aplicirali LB na štiri mesta (levi in desni IO blok, levi in desni IA blok). Skupini LB+DEX IO smo aplicirali DEX v IO blok ter placebo IV, skupini LB+DEX IA pa smo aplicirali DEX v IA blok ter placebo IV. Skupini LB+DEX IV smo IV aplicirali DEX, skupini LB+PLC IV pa placebo. Uporabili smo 0,5 % LB ($0,18 \text{ mL/kg}^{2/3}$ za IA blok in $0,11 \text{ mL/kg}^{2/3}$ za IO blok), odmerek DEX pa je bil $0,5 \text{ } \mu\text{g/kg}$. Študija je bila dvojno slepa.

V drugi del raziskave smo poleg 10 psov iz prvega dela raziskave (LB+PLC IV), ki smo jim aplicirali LB na vse štiri bloke (LB VSI), vključili še 20 psov, pri katerih smo LB aplicirali le na eno mesto, odvisno od klinične indikacije (10 psov IO blok (LB IO), 10 psov IA blok (LB IA)). Odmerek LB je bil enak kot v prvem delu raziskave.

Psom smo v splošni anesteziji vstavili arterijsko kanilo za merjenje direktnega arterijskega tlaka in za odvzeme vzorcev krvi za analize. Vrednosti srčno-žilnih parametrov smo pri vsaki meritvi odčitali trikrat v 15 sekundah. Najprej smo odčitali bazalne vrednosti (časovna točka 0). Nato

smo aplicirali oralne bloke (IO z intraoralno in IA z ekstraoralno tehniko) in takoj po aplikaciji zadnjega bloka v dveh minutah IV aplicirali še DEX ali placebo. Parametre smo prvih 12 minut od začetka IV aplikacije odčitali enkrat na minuto, nato pa na pet minut do konca posega. Za določanje koncentracije LB in DEX v krvni plazmi smo odvzeli 4 mL krvi pred in po aplikaciji DEX in LB ter v različnih časovnih točkah po IV aplikaciji. Vzorce smo analizirali z LC-MS/MS. S programom GraphPad Prism smo izračunali osnovne farmakokinetične parametre. Za določanje koncentracije kortizola in glukoze v krvnem serumu smo odvzeli kri ob časovni točki 0 in na koncu posega. Koncentracijo kortizola smo določili z ELFA tehniko z imunološkim analizatorjem, koncentracijo glukoze pa s plinskim analizatorjem krvi. Stopnjo sedacije smo ocenjevali pred posegom in nato vsako uro do 6 ur po koncu posega, obnašanje pa pred posegom, po ekstubaciji in nato vsako uro do 6 ur po koncu posega. Prav tako smo ocenjevali še stopnjo ustne bolečine in kvaliteto življenja pred posegom in 14 dni po posegu. Obakrat so stanje ocenili lastnik živali, anesteziist in stomatolog.

Ugotovili smo, da lokacija perinevralne aplikacije (IO ali IA) DEX ne vpliva na hitrost in količino sistemske absorpcije DEX, saj nismo ugotovili značilnih razlik v najvišji plazemski koncentraciji (C_{max}), času do najvišje plazemske koncentracije (T_{max}) in površini pod krivuljo (AUC) med skupinama LB+DEX IO in LB+DEX IA. Prav tako lokacija perinevralne aplikacije DEX ne vpliva na odziv obtočil, saj nismo ugotovili značilnih razlik v frekvenci srca in srednjem arterijskem tlaku med skupinama LB+DEX IO in LB+DEX IA. Ugotovili smo, da DEX ne omeji perioperacijskega stresnega odgovora, saj se koncentracija kortizola na koncu posega ni značilno razlikovala od bazalnih vrednosti pri nobeni skupini, glikemični zavor in s tem nižje vrednosti koncentracije glukoze na koncu posega pa smo ugotovili le pri LB+DEX IA skupini. Predvidevamo, da je bil razlog premajhen odmerek DEX. Kvaliteto življenja po stomatološkem posegu je ocenil kot boljšo le stomatolog, ki je za razliko od anesteziista in lastnika psa bolečino po posegu ocenil z značilno nižjo oceno kot pred posegom.

Značilna razlika v C_{max} in AUC LB je bila pričakovana pri primerjavi aplikacije na enega (LB IO in LB IA) ali na vse štiri kvadrante ustne votline (LB VSI). Ugotovili smo, da lokacija perinevralne aplikacije (IO ali IA) LB ne vpliva na hitrost in količino sistemske absorpcije LB, saj nismo ugotovili značilnih razlik v C_{max} , T_{max} in AUC med skupinama LB IO in LB IA. Ugotovili smo tudi, da je perinevralna aplikacija LB za omrtvičenje vseh štirih kvadrantov ustne votline v odmerkih, uporabljenih v tej raziskavi, varna.

8 SUMMARY

The multimodal approach to pain prevention includes the use of different types of analgesics before, during, and after surgery. Regional anaesthesia is a method in which perineural administration of local anaesthetics (LA) causes blockade of pain transmission to the central nervous system. The most commonly used blocks to desensitize the oral cavity of dogs undergoing dental procedures are infraorbital and inferior alveolar blocks. Perineural administration of LA into the infraorbital canal results in desensitization of the ipsilateral side of the maxilla. Perineural administration of LA into the submucosa at the opening of the mandibular foramen where the inferior alveolar nerve enters the mandibular canal desensitizes the ipsilateral side of the mandible. One of the most commonly used LA is levobupivacaine (LB), which has a similar effect to racemic bupivacaine but is less cardiotoxic. Alpha-2-adrenoreceptor agonists such as dexmedetomidine (DEX) can be added to LA to prolong the effects of regional blocks. Dexmedetomidine is a d-isomer of the racemic mixture medetomidine. In dogs, its adverse effects are dose-dependent and mainly haemodynamic and include hypertension and bradycardia.

The primary aim of this study was to investigate the pharmacokinetics and cardiopulmonary effects of LB and DEX after perineural administration (IO and IA blocks) of the two drugs. The secondary aim of the study was to investigate whether DEX as an adjunctive analgesic limits the perioperative stress response and whether the stress response differs depending on the site of administration of DEX (perineural or IV).

Forty dogs, randomly assigned to four groups, were included in the first part of the study. All dogs received LB, to desensitize all four quadrants (left and right IOI block, left and right IA). The group LB+DEX IO received DEX in IO block and placebo IV, the group LB+DEX IA received DEX in IA block and placebo IV. Group LB+DEX IV received DEX IV and LB+PLC IV received placebo IV. Levobupivacaine 0.5% was used ($0.18 \text{ mL/kg}^{2/3}$ for IA block and $0.11 \text{ mL/kg}^{2/3}$ for IO block), and the dose of DEX was always 0.5 µg/kg . The study was double-blind.

In addition to the 10 dogs from the first part (group LB +PLC IV) that received LB to all four quadrants (LB VSI), we included another 20 dogs that received LB to only one quadrant, as clinically indicated (10 dogs IO block (LB IO), 10 dogs IA block (LB IA)). The dose of LB was the same as in the first part of the study.

The arterial catheter was placed under general anaesthesia for direct arterial pressure measurement and blood sampling. Cardiovascular parameters were recorded three times within 15 seconds. First, basal values were recorded (time 0). Oral blocks were performed (IO intraoral and IA extraoral technique), and then either DEX or placebo was administered over two minutes IV. The above parameters were recorded every minute for the first 12 minutes after the start of IV administration, then every 5 minutes until the end of the procedure. Four millilitres of blood were collected before and immediately after administration of the oral blocks and at various time points after IV administration to determine the concentration of LB and DEX in plasma. Samples were analysed using LC-MS/MS. Standard pharmacokinetic parameters were calculated using GraphPad Prism. Blood samples were collected at time 0 and at the end of the procedure to determine serum cortisol and blood glucose levels. Cortisol concentration was measured with an automated enzyme-linked fluorescent assay (ELFA) analyzer, and glucose was determined with a blood gas analyzer. The level of sedation was measured hourly before the procedure and hourly for six hours after the termination of anaesthesia. Behavioural score was determined before the procedure, after extubation, and hourly for six hours after the termination of anaesthesia. The level of oral pain and quality of life were assessed before the procedure and 14 days after the procedure. The assessment was performed both times by the owner, the anaesthesiologist, and the stomatologist.

The site of perineural administration (IO or IA) of DEX did not affect the rate and volume of systemic absorption of DEX, as no significant differences in maximum plasma concentration ($C_{\max}$), time to maximum plasma concentration ($T_{\max}$), and area under the curve (AUC) were observed between the LB +DEX IO and LB +DEX IA groups. The site of perineural administration also did not affect the changes in cardiovascular parameters, as no significant differences in heart rate and mean arterial blood pressure were observed between the LB +DEX IO and LB +DEX IA groups. Dexmedetomidine also did not limit the perioperative stress response because the cortisol concentration at the end of the procedure was not significantly different from basal values in any group, and the suppression of the glycemic response and thus the lower glucose concentration at the end of the procedure was noted only in the LB + DEX IA group. The possible reason for this was the very low dose of DEX. Only the stomatologist, but not the owner and the anaesthesiologist, assessed the quality of life as better, as only the stomatologist's assessment after the procedure was significantly lower than the assessment before the procedure.

There was an expected significant difference in $C_{\max}$ and AUC of LB between the LB IO and LB IA groups and the LB VSI group. The site of perineural administration (IO or IA) of LB did not affect the rate and volume of systemic absorption of DEX, as no significant differences in $C_{\max}$, $T_{\max}$, and AUC were observed between the LB IO and LB IA groups. This study confirmed that the perineural use of LB to desensitize all four quadrants of the oral cavity is safe at the doses used in this study.

9 ZAHVALE

Iskreno se zahvaljujem vsem, ki so kakorkoli sodelovali pri nastanku doktorske disertacije in brez katerih mi zagotovo ne bi uspelo premagati vseh preprek na poti do cilja.

Iskreno se zahvaljujem mentorici izr. prof. dr. Alenki Seliškar za prijaznost in razumevanje ter sposobnost, da reši vsako težavo ne glede na to, kako zahtevna je. Hvaležen sem, da me je vzela pod okrilje, ko sem bil na razpotju svoje profesionalne kariere.

Iskreno se zahvaljujem svoji ekipi. Zahvaljujem se doc. dr. Ani Nemec za vso strokovno pomoč in pomoč pri zbiranju pacientov. Zahvaljujem se prof. dr. Mojci Kržan za farmakokinetične izračune, ki so bili vedno opravljeni hitro in natančno, ter nepogrešljivo pomoč pri pisanju. Zahvaljujem se doc. dr. Tini Kosjek za postavitev metode za farmakokinetične analize in obdelavo nešteti vzorcev. Zahvaljujem se Anžetu Bašu, da je prišel na pomoč, ko je bilo najbolj potrebno, in za vso angažiranost ter profesionalno obdelavo statističnih podatkov. Zahvaljujem se tudi strok. svet. mag. Majdi Nemec za analizo kortizola v serumu.

Zahvaljujem se vsem svojim pacientom in njihovim lastnikom, brez katerih izvedba študije ne bi bila mogoča.

Lepo se zahvaljujem tudi predsedniku komisije izr. prof. dr. Tomažu Snoju in članoma komisije doc. dr. Moniki Ceciliji Žužek in prof. dr. Mirtu Kameniku, ki so s svojimi predlogi pomembno pripomogli k izboljšanju disertacije.

Zahvaljujem se sodelavcem na Kliniki za male živali Veterinarske fakultete, predvsem Enoti za anestezilogijo, za neprekinjeno podporo in želim si, da bi še naprej ostali najboljša enota na fakulteti. Zahvalil bi se tudi prof. dr. Alenki Nemec Svete in Aleksandru Jenku za pomoč v laboratoriju.

Hvala tudi anestezijski soborki Jerneji Sredenšek za pomoč pri vstavljanju arterijskih kanil in Lei Lamovšek za farmakokinetične analize.

Hvala lekt. dr. Mateji Gaber in Philipu Nagelu za slovensko in angleško lektoriranje doktorske naloge ter knjižničarkama Stanislavi Ujc in Slavici Sekulič za skrben pregled literature.

Iz srca se zahvaljujem družini in prijateljem za neprekinjeno podporo in brezpogojno ljubezen.

10 LITERATURA

1. Aarnes TK, Dent BT, Lakritz J, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of intramuscular dexmedetomidine in dogs. *Am J Vet Res.* 2023; 84: e184 (5 str.). doi: 10.2460/ajvr.22.10.0184.
2. Aguiar J, Chebroux A, Martinez-Taboada F, Leece EA. Analgesic effects of maxillary and inferior alveolar nerve blocks in cats undergoing dental extractions. *J Feline Med Surg.* 2015; 17: 110-6. doi: 10.1177/1098612X14533551.
3. Ahlquist RP. A study of the adrenotropic receptors. *Am J Physiol.* 1948;153(3): 586-600. doi: 10.1152/ajplegacy.1948.153.3.586.
4. Akashi N, Murahata Y, Hosokawa M, Hikasa Y, Okamoto Y, Imagawa T. Cardiovascular and renal effects of constant rate infusions of remifentanyl, dexmedetomidine and their combination in dogs anesthetized with sevoflurane. *J Vet Med Sci.* 2021; 83: 285-96. doi: 10.1292/jvms.20-0457.
5. Alaman M, González-Marrón A, Lorente C, Bonastre C, Laborda, A. Description of an ultrasound-guided transverse approach to the transversus thoracis plane block and evaluation of injectate spread in canine cadavers. *Animals.* 2021; 11: e2657 (12 str.); doi: 10.3390/ani11092657.
6. Ambrisko TD, Hikasa Y. Neurohormonal and metabolic effects of medetomidine compared with xylazine in beagle dogs. *Can J Vet Res.* 2002; 66: 42-9.
7. Anand KJ, Hansen DD, Hickey PR. Hormonal-metabolic stress responses in neonates undergoing cardiac surgery. *Anesthesiology.* 1990; 73: 661-70. doi: 10.1097/00000542-199010000-00012.
8. Anand KJ, Hickey PR. Halothane-morphine compared with high-dose sufentanil for anesthesia and postoperative analgesia in neonatal cardiac surgery. *N Engl J Med.* 1992; 326:1-9. doi: 10.1056/NEJM199201023260101.

9. Avery RA, Franowicz JS, Studholme C, Van Dick CH, Arnsten AF. The α_{2A} -adrenoceptor agonist, guanfacine, increases regional cerebral blood flow in dorsolateral prefrontal cortex of monkeys performing a spatial working memory task. *Neuropsychopharmacology*. 2000; 23: 240–49. doi: 10.1016/S0893-133X(00)00111-1.
10. Avram MJ, Krejcie TC, Niemann CU, Enders-Klein C, Shanks CA, Henthorn TK. Isoflurane Alters the Recirculatory Pharmacokinetics of Physiologic Markers. *Anesthesiology*. 2000; 92: 1757–68. doi: 10.1097/00000542-200006000-00036.
11. Badino P, Odore R, Re G. Are so many adrenergic receptor subtypes really present in domestic animal tissues? A pharmacological perspective. *Vet J*. 2005; 170: 163-74. doi: 10.1016/j.tvjl.2004.05.015.
12. Becker DE, Reed KL. Local Anesthetics: Review of Pharmacological Considerations. *Anesth Prog*. 2012; 59: 90-101. doi: 10.2344/0003-3006-59.2.90.
13. Becker WM, Mama, KR, Rao S, et al. Prevalence of Dysphoria after Fentanyl in Dogs Undergoing Stifle Surgery. *Vet Surg*. 2013; 42: 302–7. doi: 10.1111/j.1532-950X.2012.01080.x.
14. Bednarski R. Dogs and cats. In: Grimm KA, Lamont LA, Tranquilli WJ, Greene SA, Robertson SA, eds. *Veterinary anesthesia and analgesia*. 5th ed. Ames: Wiley Blackwell, 2015: 819-26.
15. Benito J, Monterrey B, Lavoie AM, Beauchamp G, Lascelles BDX, Steagall PV. Analgesic efficacy of intraperitoneal administration of bupivacaine in cats. *J Feline Med Surg*. 2016; 18: 906–12. doi: 10.1177/1098612X15610162.
16. Benson GJ, Grubb TL, Neff-Davis C, et al. Perioperative stress response in the dog: effect of pre-emptive administration of medetomidine. *Vet Surg*. 2000; 29: 85-91. doi: 10.1111/j.1532-950x.2000.00085.x.

17. Bjorklind M, Sirvio J, Sallinen J, Scheinin M, Kobilka BK, Riekkinen P. α_2 -Adrenoceptor overexpression disrupts execution of spatial and non-spatial search patterns. *Neuroscience*. 1999; 88: 1187–98. doi: 10.1016/s0306-4522(98)00306-6.
18. Boerboom SL, de Haes A, vd Wetering L, et al. Preperitoneal bupivacaine infiltration reduces postoperative opioid consumption, acute pain, and chronic postsurgical pain after bariatric surgery: A randomized controlled trial. *Obes Surg*. 2018; 28: 3102–10. doi: 10.1007/s11695-018-3341-6.
19. Brummett CM, Padda AK, Amodeo FS, Welch KB, Lydic R. 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: 111-9. doi: 10.1097/ALN.0b013e3181bbcc26.
20. Brummett CM, Hong EK, Janda AM, Amodeo FS, Lydic R. 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: 836-43. doi: 10.1097/ALN.0b013e318221fcc9.
21. Bylund DB. Heterogeneity of α_2 adrenergic receptors. *Pharmacology, Biochem Behav*. 1985; 22: 835–43. doi: 10.1016/0091-3057(85)90536-2.
22. Campoy L, Read MR. The thoracic limb. In: Campoy L, Read MR, eds. *Small animal regional anesthesia and analgesia*. Hoboken: John Wiley & Sons 2013; 141-65.
23. Castejón-González AC, Reiter AM. Locoregional Anesthesia of the Head. *Vet Clin Small Anim Pract*. 2019; 49: 1041–61. doi: 10.1016/j.cvsm.2019.07.011.
24. Carollo DS, Nossaman BD, Ramadhyani U. Dexmedetomidine: a review of clinical applications. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2008; 21: 457-61. doi: 10.1097/ACO.0b013e328305e3ef.
25. Cicirelli V, Debidia P, Maggio N, Caira M, Lacalandra G, Aiudi, G. Ultrasound-Guided Funicular Block: Ropivacaine Injection into the Tissue around the Spermatic Cord to

- Improve Analgesia during Orchiectomy in Dogs. *Animals*. 2021; 11: e1275 (8 str.). doi: 10.3390/ani11051275.
26. Civantos Calzada B, De Artinano AA. Alpha-Adrenoceptor subtypes. *Pharmacol Res*. 2001; 44: 195–208. doi: 10.1006/phrs.2001.0857.
27. Chang DH, Ladd LA, Wilson KA, Gelgor L, Mather LE. Tolerability of large-dose intravenous levobupivacaine in sheep. *Anesth Analg*. 2000; 91: 671–9. doi: 10.1097/00000539-200009000-00033.
28. Clarkson C, Hondeghem L. Mechanism for bupivacaine depression of cardiovascular conduction: fast block of sodium channels during the action potential with slow recovery from block during diastole. *Anesthesiology*. 1985; 62: 396-405.
29. Congdon JM, Marquez M, Niyom S, Boscan P. Evaluation of the sedative and cardiovascular effects of intramuscular administration of dexmedetomidine with and without concurrent atropine administration in dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 2011; 239: 81–9. doi: 10.2460/javma.239.1.81.
30. Conzemius MG, Brockman DJ, King LG, Perkowski SZ. Analgesia in dogs after intercostal thoracotomy: A clinical trial comparing intravenous buprenorphine and interpleural bupivacaine. *Vet Surg*. 1994; 23: 291–8. doi: 10.1111/j.1532-950x.1994.tb00487.x.
31. Copeland SE, Ladd LA, Gu XQ, Mather LE. The effects of general anesthesia on whole body and regional pharmacokinetics of local anesthetics at toxic doses. *Anesth Analg*. 2008; 106: 1440–9. doi: 10.1213/ane.0b013e31816ba541.
32. Cotecchia S, Bjorklof K, Rossier O, Stanasila L, Greasley P, Fanelli F. The α_{1b} -adrenergic receptor subtype: molecular properties and physiological implications. *J Recept Signal Transduct Res*. 2002; 22: 1–16. doi: 10.1081/rrs-120014585.

33. Cullen LK. Medetomidine sedation in dogs and cats: a review of its pharmacology, antagonism and dose. *Br Vet J.* 1996; 152: 519-35. doi: 10.1016/s0007-1935(96)80005-4.
34. Daniel EE, Brown RD, Wang YF, Low AM, Lu-Chao H, Kwan CY. Alpha-adrenoceptors in canine mesenteric artery are predominantly 1A subtype: pharmacological and immunochemical evidence. *J Pharmacol Exp Ther.* 1999; 291: 671–9.
35. de Brito Cancado TO, Omanis M, Ashmawi HA, Torres MI. Chronic pain after cesarean section. Influence of anesthetic/surgical technique and postoperative analgesia. *Rev Bras Anesthesiol.* 2012; 62: 762–74. doi: 10.1016/S0034-7094(12)70177-0.
36. DeGroot WD, Tobias KM, Browning DC, Zhu X. Examination of laryngeal function of healthy dogs by using sedation protocols with dexmedetomidine. *Vet Surg.* 2020; 49: 124- 30. doi: 10.1111/vsu.13334.
37. Della Rocca G, Di Salvo A, Marenzoni ML, et al. Development, Preliminary Validation, and Refinement of the Composite Oral and Maxillofacial Pain Scale-Canine/Feline (COPS-C/F). *Front Vet Sci.* 2019; 6: e274 (10 str.). doi: 10.3389/fvets.2019.00274.
38. Dent BT, Aarnes TK, Wavreille VA, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamic effects of oral transmucosal and intravenous administration of dexmedetomidine in dogs. *Am J Vet Res.* 2019; 80: 969-75. doi: 10.2460/ajvr.80.10.969.
39. DeRose D, Hale F. Owner Survey of 55 Dogs That Underwent Full Mouth Extraction Procedures in a Referral Practice. *J Vet Dent.* 2022; 40: 125-33. doi: 10.1177/08987564221141999.
40. Di Bella C, Skouropoulou D, Stabile M, et al. Respiratory and hemodynamic effects of 2 protocols of low-dose infusion of dexmedetomidine in dogs under isoflurane anesthesia. *Can J Vet Res.* 2020; 84: 96–107.

41. Di Cesare F, Gioeni D, Ravasio G, et al. Clinical pharmacokinetics of a dexmedetomidine–methadone combination in dogs undergoing routine anaesthesia after buccal or intramuscular administration. *J Vet Pharmacol Ther.* 2019; 42: 392–400. doi: 10.1111/jvp.12771.
42. Docherty JR. Subtypes of functional α_1 -and α_2 -adrenoceptors. *Eur J Pharmacol.* 1998; 361: 1–15. doi: 10.1016/s0014-2999(98)00682-7.
43. Drew GM, Whiting SB. Evidence for two distinct types of postsynaptic α -adrenoceptor in vascular smooth muscle in vivo. *Br J Pharmacol.* 1979; 67: 207–15. doi: 10.1111/j.1476-5381.1979.tb08668.x.
44. Duncan AE. Hyperglycemia and Perioperative Glucose Management. *Curr Pharm Des.* 2012; 18: 6195-203. doi: 10.2174/138161212803832236.
45. Dutta S, Lal R, Karol MD, Cohen T, Ebert T. Influence of Cardiac Output on Dexmedetomidine Pharmacokinetics. *J Pharm Sci.* 2000; 89: 519–27. doi: 10.1002/(SICI)1520-6017(200004)89:4<519::AID-JPS9>3.0.CO;2-U.
46. Ebert TJ, Hall JE, Barney JA, Uhrich TD, Colinco MD. The effects of increasing plasma concentrations of dexmedetomidine in humans. *Anesthesiology.* 2000; 93: 382-94. doi: 10.1097/00000542-200008000-00016.
47. Epstein M, Rodan I, Griffenhagen G, et al. AAHA/AAFP Pain Management Guidelines for Dogs and Cats. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2015; 51: 67–84. doi: 10.1177/1098612X15572062.
48. Fawcett JP, Kennedy JM, Kumar A, et al. Comparative efficacy and pharmacokinetics of racemic bupivacaine and S-bupivacaine in third molar surgery. *J Pharm Pharm Sci.* 2002; 5: 199-204.

49. Fizzano KM, Claude AK, Kuo LH. Evaluation of a modified infraorbital approach for a maxillary nerve block for rhinoscopy with nasal biopsy of dogs. *Am J Vet Res.* 2017; 78: 1025–35. doi: 10.2460/ajvr.78.9.1025.
50. Foster RH, Markham A. Levobupivacaine: a review of its pharmacology and use as a local anaesthetic. *Drugs.* 2000; 59: 551-79. doi: 10.2165/00003495-200059030-00013.
51. Fox SM, Mellor DJ, Lawoko CRO, Hodge H, Firth EC. Changes in plasma cortisol concentrations in bitches in response to different combinations of halothane and butorphanol, with or without ovariohysterectomy. *Res Vet Sci.* 1998; 65:125-33. doi: 10.1016/s0034-5288(98)90163-1.
52. Gertler R, Brown HC, Mitchell DH, Silvius EN. Dexmedetomidine: a novel sedative-analgesic agent. *Proc (Bayl Univ Med Cent).* 2001; 14: 13-21. doi: 10.1080/08998280.2001.11927725.
53. Gibbison G, Angelini GD, Lightman SL. Dynamic output and control of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in critical illness and major surgery. *Br J Anaesth.* 2013; 111: 347-60. doi: 10.1093/bja/aet077. doi: 10.1093/bja/aet077.
54. Giovannitti JA, Thoms SM, Crawford JJ. Alpha-2 Adrenergic Receptor Agonists: A Review of Current Clinical Applications. *Anesth Prog.* 2015; 62: 31-9. doi: 10.2344/0003-3006-62.1.31.
55. Grasso SC, Ko JC, Weil AB, Paranjape V, Constable PD. Hemodynamic influence of acepromazine or dexmedetomidine premedication in isoflurane-anesthetized dogs. *J. Am Vet Med Assoc.* 2015; 246: 754–64. doi: 10.2460/javma.246.7.754.
56. Grint NJ, Burford J, Dugdale AHA. Does pethidine affect the cardiovascular and sedative effects of dexmedetomidine in dogs. *J Small Anim Pract.* 2009; 50: 62–6. doi: 10.1111/j.1748-5827.2008.00670.x.
57. Groban L, Deal DD, Vernon JC, James RL, Butterworth J. Cardiac resuscitation after incremental overdose with lidocaine, bupivacaine, levobupivacaine, and ropivacaine

- in anesthetized dogs. *Anesth Analg.* 2001; 92: 37–43. doi: 10.1097/00000539-200101000-00008.
58. Grubb T, Lobprise H. Local and regional anaesthesia in dogs and cats: Overview of concepts and drugs (Part 1). *Vet Med Sci.* 2020; 6: 209-17. doi: 10.1002/vms3.219.
59. Heinonen JA, Skrifvars MB, Haasio J, Backman JT, Rosenberg PH, Litonius E. Intravenous lipid emulsion for levobupivacaine intoxication in acidotic and hypoxaemic pigs. *Anaesth Intensive Care.* 2016; 44: 270-7. doi: 10.1177/0310057X1604400214.
60. Heppollette CAA, Brunnen D, Bampoe S, Odor PM. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Levobupivacaine. *Clin Pharmacokinet.* 2020; 59: 715–45. doi: 10.1007/s40262-020-00868-0.
61. Herman JP, McKlveen JM, Ghosal S, et al. Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Stress Response. *Compr Physiol.* 2016; 6: 603-21. doi: 10.1002/cphy.c150015.
62. Ishii H, Kohno T, Yamakura T, Ikoma M, Baba H. Action of dexmedetomidine on the substantia gelatinosa neurons of the rat spinal cord. *Eur J Neurosci.* 2008; 27: 3182-90. doi: 10.1111/j.1460-9568.2008.06260.x.
63. Kehlet H. Surgical stress: the role of pain and analgesia. *Br J Anaesth.* 1989; 63:189-95. doi: 10.1093/bja/63.2.189.
64. Kersten J, Pagel PS, Tessmer JP, Roerig DL, Schmeling WT, Waritier DL. Dexmedetomidine Alters the Hemodynamic Effects of Desflurane and Isoflurane in Chronically Instrumented Dogs. *Anesthesiology.* 1993; 79: 1022–32. doi: 10.1097/00000542-199311000-00021.
65. Ko JC, Mandsager RE, Lange DN, Fox SM. Cardiorespiratory responses and plasma cortisol concentrations in dogs treated with medetomidine before undergoing ovariohysterectomy. *J Am Vet Med Assoc.* 2000; 217: 509-14. doi: 10.2460/javma.2000.217.509.

66. Krinsley JS. Association between hyperglycemia and increased hospital mortality in a heterogeneous population of critically ill patients. *Mayo Clin Proc.* 2003; 78: 1471-8. doi: 10.4065/78.12.1471.
67. Kuusela E, Raekallio M, Anttila M, et al. Clinical effects of pharmacokinetics of medetomidine and its enantiomers in dogs. *J Vet Pharmacol Therap.* 2000; 23: 15-20. doi: 10.1046/j.1365-2885.2000.00245.x.
68. Kuusela E, Raekallio M, Hietanen H, Huttula J, Vainio O. 24-hour Holter-Monitoring in the Perianaesthetic Period in Dogs Premedicated with Dexmedetomidine. *Vet J.* 2002; 164: 235–39. doi: 10.1053/tvj.2002.0735.
69. Kwan DC. Heterogeneity of vascular smooth muscle α -adrenoceptors in canine blood vessels. *Clin Exp Pharmacol.* 1999; 26: 822–3. doi: 10.1046/j.1440-1681.1999.03136.x.
70. Lands AM, Arnold A, McAuliff JP, Luduena FP, Brown TG. Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. *Nature.* 1967; 214: 597-8. doi: 10.1038/214597a0.
71. Lascelles BDX, Kirkby SK. An extended release local anaesthetic: Potential for future use in veterinary surgical patients? *Vet Med Sci.* 2016; 2: 229–38. doi: 10.1002/vms3.43.
72. Leone S, Di Cianni S, Casati A, Fanelli G. Pharmacology, toxicology, and clinical use of new long acting anesthetics, ropivacaine and levobupivacaine. *Acta Biomedica.* 2008; 79: 92-105.
73. Martinez-Taboada F, Sun TC, Redondo JI. Onset of Action of Bupivacaine Administered via Dural Puncture Epidural versus Spinal, Lumbosacral, and Sacrococcygeal Epidural Injections in Dogs: Randomised Clinical Trial. *Animals.* 2021; 11: e2996 (12 str.). doi: 10.3390/ani11102996.

74. Mathews K, Kronen PW, Lascelles D, et al. Guidelines for recognition, assessment and treatment of pain: WSAVA Global Pain Council. *J Small Anim Pract.* 2014; 55: E10–68. doi: 10.1111/jsap.12200.
75. Maze M, Tranquilli W. Alpha-2 adrenoceptor agonists: defining the role in clinical anesthesia. *Anesthesiology.* 1991; 74: 581-605.
76. Maze M, Virtanen R, Daunt D, Banks SJ, Stover EP, Feldman D. Effects of Dexmedetomidine, a Novel Imidazole Sedative-Anesthetic Agent, on Adrenal Steroidogenesis: In Vivo and In Vitro Studies. *Anesth Analg.* 1991; 73: 204-8. doi: 10.1213/00000539-199108000-00015.
77. McLeod GA, Burke D. Levobupivacaine. *Anaesthesia.* 2001; 56: 331–41. doi: 10.1046/j.1365-2044.2001.01964.x.
78. Mclure HA, Rubin AP. Review of local anaesthetic agents. *Minerva Anesthesiol.* 2005; 71: 59–74.
79. Miller T, Gibbison B, Russell GM. Hypothalamic–pituitary–adrenal function during health, major surgery, and critical illness. *BJA Education.* 2016; 17: 16-21. doi: <https://doi.org/10.1093/bjaed/mkw042>.
80. Miyoshi H, Kato T, Nakamura R, et al. Pharmacokinetics of intraperitoneal and subcutaneous levobupivacaine in anesthetized rats. *J Anesth.* 2021; 35: 168-74. doi: 10.1007/s00540-020-02883-8.
81. Murphy TJ, Bylund DB. Characterization of α_2 -adrenergic receptors in the OK cell, an opossum kidney cell line. *J Pharmacol Exper Ther.* 1988; 244: 571–8.
82. Murrell JC, Hellebrekers LJ. Medetomidine and dexmedetomidine: A review of cardiovascular effects and antinociceptive properties in the dog. *Vet Anaesth Analg.* 2005; 32: 117–27. doi: 10.1111/j.1467-2995.2005.00233.x.

83. Myrna KE, Bentley E, Smith LJ. Effectiveness of injection of local anesthetic into the retrobulbar space for postoperative analgesia following eye enucleation in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2010; 237: 174–7. doi: 10.2460/javma.237.2.174.
84. Newton DJ, McLeod GA, Khan F, Belch JJ. Vasoactive characteristics of bupivacaine and levobupivacaine with and without adjuvant epinephrine in peripheral human skin. *Br J Anaesth.* 2005; 94: 662–7. doi: 10.1093/bja/aei095.
85. Nguyen V, Tiemann D, Park E, Salehi A. Alpha-2 Agonists. *Anesthesiol Clin.* 2017; 35: 233–45. doi: 10.1016/j.anclin.2017.01.009.
86. Ohmura S, Kawada M, Ohta T, Yamamoto K, Kobayashi T. Systemic toxicity and resuscitation in bupivacaine, levobupivacaine, or ropivacaine-infused rats. *Anesth Analg.* 2001; 93: 743–8. doi: 10.1097/00000539-200109000-00039.
87. Ouattara A, Lecomte P, Le Manach Y, et al. Poor Intraoperative Blood Glucose Control Is Associated with a Worsened Hospital Outcome after Cardiac Surgery in Diabetic Patients. *Anesthesiology.* 2005; 103: 687-94. doi: 10.1097/00000542-200510000-00006.
88. Pascoe PJ. The cardiopulmonary effects of dexmedetomidine infusions in dogs during isoflurane anesthesia. *Vet Anaesth Analg.* 2014; 42: 360-8. doi: 10.1111/vaa.12220.
89. Pascoe PJ. The effects of lidocaine or a lidocaine-bupivacaine mixture administered into the infraorbital canal in dogs. *Am J Vet Res.* 2016; 77: 682-7. doi: 10.2460/ajvr.77.7.682.
90. Pascoe PJ. Anesthesia and Pain Management. In: Verstraete, FJM, Lommer MJ, Arzi B, eds. *Oral and Maxillofacial Surgery in Dogs and Cats*, 2nd ed. St. Louis: Elsevier, 2020: 22-43.
91. Pascoe PJ, Chohan AS. Comparison of the efficacy and duration of desensitization of oral structures following injection of various volumes of a lidocaine-bupivacaine

mixture via an infraorbital approach in dogs. *Am J Vet Res.* 2020; 81: 463–70. doi: 10.2460/ajvr.81.6.463.

92. Pavlica M, Kržan M, Nemec A, Kosjek T, Baš A, Seliškar A. Cardiopulmonary Effects and Pharmacokinetics of Dexmedetomidine Used as an Adjunctive Analgesic to Regional Anesthesia of the Oral Cavity with Levobupivacaine in Dogs. *Animals (Basel).* 2022; 12: e1217 (18 str.). doi: 10.3390/ani12091217.
93. Perez TE, Grubb TL, Greene SA, et al. Effects of intratesticular injection of bupivacaine and epidural administration of morphine in dogs undergoing castration. *J Am Vet Med Assoc.* 2013; 242: 631–42. doi: 10.2460/javma.242.5.631.
94. Philipp M, Brede M, Hein L. Physiological significance of α_2 -adrenergic receptor subtype diversity: one receptor is not enough. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2002; 283: R287–R95. doi: 10.1152/ajpregu.00123.2002.
95. Pichot C, Ghignone M, Quintin L. Dexmedetomidine and clonidine: from second- to first-line sedative agents in the critical care setting. *J Intensive Care Med.* 2012; 27: 219–37. doi: 10.1177/0885066610396815.
96. Pypendop BH, Verstegen JP. Hemodynamic effects of medetomidine in the dog: A dose titration study. *Vet Surg.* 1998; 27: 612–22. doi: 10.1111/j.1532-950x.1998.tb00539.x.
97. Rankin DC. Sedatives and Tranquilizers. In: Grimm KA, Lamont LA, Tranquilli WJ, Greene SA, Robertson SA, eds. *Veterinary anesthesia and analgesia*. 5th ed. Ames: Wiley Blackwell, 2015: 196-206.
98. Rashid S, Dick BD. Post-surgical pain syndromes: A review for the non-pain specialist. *Can J Anaesth.* 2014; 61: 123–30. doi: 10.1007/s12630-013-0072-y.
99. Raušer P, Fichtel T. Early Analgesic Efficacy of Morphine, Butorphanol, Lidocaine, Bupivacaine or Carprofen After Periodontal Treatment in Dogs. *J Vet Dent.* 2020; 37: 184-91. doi: 10.1177/0898756420986926.

- 100.Rodríguez PM, González FJ, Sabaté S, et al. Low-concentration distal nerve blocks with 0.125% levobupivacaine versus systemic analgesia for ambulatory trapeziectomy performed under axillary block: A randomized controlled trial. *Minerva Anesthesiol.* 2018; 84: 1261–9. doi: 10.23736/S0375-9393.18.12291-7.
- 101.Romano M, Portela DA, Verdier N, Otero PE. Changes in serum cortisol and blood glucose concentrations in anesthetized, pain-free dogs administered fentanyl. *Vet Anaesth Analg.* 2019; 46: 488-91. doi: 10.1016/j.vaa.2019.04.007.
- 102.Romano M, Portela DA, Breggi G, Otero PE. Stress-related biomarkers in dogs administered regional anaesthesia or fentanyl for analgesia during stifle surgery. *Vet Anaesth Analg.* 2016; 43: 44-54. doi: 10.1111/vaa.12275.
- 103.Ruetsch YA, Böni T, Borgeat A. From Cocaine to Ropivacaine: The History of Local Anesthetic Drugs. *Curr Top Med Chem.* 2001; 1: 175-82. doi: 10.2174/1568026013395335.
- 104.Savvas I, Papazoglou LG, Kazakos G, Anagnostou T, Tsioli V, Raptopoulos D. Incisional block with bupivacaine for analgesia after celiotomy in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2008; 44: 60–6. doi: 10.5326/0440060.
- 105.Scheinin M, Sallinen J, Haapalinna A. Evaluation of the α_2C -adrenoceptor as a neuropsychiatric drug target studies in transgenic mouse model. *Life Sci.* 2001; 68: 2277–85. doi: 10.1016/s0024-3205(01)01016-5.
- 106.Schwartz DD, Jones WG, Hedden KP, Clark TP. Molecular and pharmacological characterization of the canine brainstem α_{2A} -adrenergic receptor. *J Vet Pharmacol Ther.* 1999; 22: 380–6. doi: 10.1046/j.1365-2885.1999.00233.x.
- 107.Seliškar A, Rostaher A, Ostrouška M, Butinar J. Intra- and post-operative analgesic effects of carprofen in medetomidine premedicated dogs undergoing ovariectomy. *Acta Vet.* 2005; 55: 5-6. doi:10.2298/AVB0506435S.

- 108.Simon BT, Scallan EM, Coursey CD, Kiehl WM, Moore EJ. The clinical effects of a low dose dexmedetomidine constant rate infusion in isoflurane anesthetized cats. *Vet J.* 2018; 234: 55-60. doi: 10.1016/j.tvjl.2018.02.008.
- 109.Snyder CJ, Snyder LB. Effect of mepivacaine in an infraorbital nerve block on minimum alveolar concentration of isoflurane in clinically normal anesthetized dogs undergoing a modified form of dental dolorimetry. *J Am Vet Med Assoc.* 2013; 242: 199–204. doi: 10.2460/javma.242.2.199.
- 110.Summary of product characteristics: annex 1 [online]. Amsterdam: European Medicines Agency, 2021: 1-46. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/dexdomitor-epar-product-information_en.pdf (30 jan. 2022).
- 111.Timmermans PB, Van Zwieten PA. α_2 -Adrenoceptors: classification, localization, mechanisms and targets for drugs. *J Med Chem.* 1982; 25: 1389–401. doi: 10.1021/jm00354a001.
- 112.Tisotti T, Valverde A, Hopkins A, O’Sullivan ML, Hanna B, Arroyo L. Use of intravenous lidocaine to treat dexmedetomidine-induced bradycardia in sedated and anesthetized dogs. *Vet Anaesth Analg.* 2020; 48: 174–86. doi: 10.1016/j.vaa.2020.11.005.
- 113.Thomasy SM, Pypendop BH, Ilkiw JE, Stanley SD. Pharmacokinetics of lidocaine and its active metabolite, monoethylglycinexylidide, after intravenous administration of lidocaine to awake and isoflurane-anesthetized cats. *Am J Vet Res.* 2005; 66: 1162–6. doi: 10.2460/ajvr.2005.66.1162.
- 114.Toutain PL, Bousquet-Melou A. Plasma terminal half-life. *J Vet Pharmacol Ther.* 2004; 27: 427–39. doi: 10.1111/j.1365-2885.2004.00600.x.
- 115.US Food and Drug Administration. Precedex label [online]. New Hampshire: FDA, 1999. http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/1999/210381bl.pdf. (30 jan. 2022).

116. Vanhoutte F, Vereecke J, Verbeke N, Carmeliet E. Stereoselective effects of the enantiomers of bupivacaine on the electrophysiological properties of the guinea-pig papillary muscle. *Br J Pharmacol.* 1991; 103: 1275-81. doi: 10.1111/j.1476-5381.1991.tb12336.x.
117. Venn RM, Hell J, Grounds RM. Respiratory effects of dexmedetomidine in the surgical patient requiring intensive care. *Crit Care.* 2000; 4: 302–8. doi: 10.1186/cc712.
118. Virtanen R, Savola JM, Saano V, Nyman L. Characterization of the selectivity, specificity and potency of medetomidine as an α_2 adrenoceptor agonist. *Eur J Pharmacol.* 1988; 150: 9–14. doi: 10.1016/0014-2999(88)90744-3.
119. Viscasillas J, Seymour C.J, Brodbelt, DC. A cadaver study comparing two approaches for performing maxillary nerve block in dogs. *Vet Anaesth Analg.* 2013; 40: 212–19. doi: 10.1111/j.1467-2995.2012.00781.x.
120. Wagner MC, Hecker KG, Pang DSJ. Sedation levels in dogs: A validation study. *BMC Vet Res.* 2017; 13: e110 (8 str.). doi: 10.1186/s12917-017-1027-2.
121. Wallis C, Holcombe LJ. A review of the frequency and impact of periodontal disease in dogs. *J Small Anim Pract.* 2020; 61: 529-40. doi: 10.1111/jsap.13218.
122. Wang H, Yang B, Zhang Y, et al. Different subtypes of α_1 -adrenoceptor modulate different K currents via different signaling pathways in canine ventricular myocytes. *J Biol Chem.* 2001; 276: 40811–6. doi: 10.1074/jbc.M105572200.
123. Wang R, Macmillan LB, Freneau RT, Magnuson MA, Lindner L, Limbird LE. Expression of α_2 -adrenergic receptor subtypes in the mouse brain: evaluation of spatial and temporal information imparted by 3 kb of 5' regulatory sequence for the α_{2A} -AR receptor gene in transgenic animals. *Neuroscience.* 1996; 74: 199–218.
124. Weerink MAS, Struys MMRF, Hannivoort LN, Barends CRM, Absalom AR, Colin P. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Dexmedetomidine. *Clin Pharmacokinet.* 2017; 56: 893–913. doi: 10.1016/0306-4522(96)00116-9.

125. Yang XP, Chiba S. Existence of different α_1 -adrenoceptor subtypes in junctional and extrajunctional neurovascular regions in canine splenic arteries. *Br J Pharmacol.* 2001; 132: 1852– 8. doi: 10.1038/sj.bjp.0704020.
126. Zhong H, Minneman PK. α_1 -Adrenoceptor subtypes. *Eur J Pharmacol.* 1999; 375: 261– 76. doi: 10.1016/s0014-2999(99)00222-8.

11 PRILOGE

11.1 Priloga 1: Validirana numerična lestvica za ocenjevanje sedacije

Lestvica za ocenjevanje sedacije živali

(povzeto po Grint in sod., Journal of Small Animal Practice, 2009* in Wagner in sod., BMC Veterinary Research, 2017)

1. Spontana drža

- stoji = 0
- žival je utrujena, vendar stoji = 1
- leži, vendar lahko vstane = 2
- leži in s težavo vstane = 3
- ne more vstati = 4

2. Palpebralni refleks

- hiter = 0
- počasen, veka prekrije celotno roženico = 1
- počasen, veka prekrije le del roženice = 2
- odsoten = 3

3. Položaj očesa

- centralno = 0
- zasukano naprej/navzdol, vendar ni pokrito s tretjo veko = 1
- zasukano naprej/navzdol in pokrito s tretjo veko = 2

4. Sproščenost čeljusti in jezika

- normalen tonus mišic čeljusti, močan refleks požiranja = 0
- zmanjšan tonus, zmeren refleks požiranja = 1
- zelo zmanjšan tonus, slaboten refleks požiranja = 2
- izguba tonusa mišic čeljusti, refleks požiranja je odsoten = 3

5. Odziv na hrup (s pomočjo klikerja, 150 cm stran od glave živali)

- žival se normalno odzove na hrup/se prestraši (obrne glavo proti izvoru hrupa/se zdrzne/se prihuli) = 0
- odziv na hrup je zmanjšan (minimalno obrne glavo proti izvoru hrupa/se manj izrazito zdrzne/prihuli) = 1
- žival se minimalno odzove na hrup = 2
- žival se ne odzove na hrup = 3

6. Odpor živali pri polaganju na bok

- žival se zelo upira, ne dovoli poleganja na bok = 0
- žival se upira, vendar dovoli poleganje na bok = 1
- žival se minimalno upira pri polaganju na bok = 2
- se sploh ne upira = 2

7. Splošno stanje/drža živali

- vznemirjena = 0
- budna in normalna = 1
- mirna = 2
- neodzivna = 3

*= povzeto po Young in sod., Journal of Small Animal Practice, 1990 in Kuusela in sod., Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 2000)

Druga stran lestvice za ocenjevanje sedacije živali

PROSTOR ZA NALEPKO

Konec posega (čas):

	Pred posegom	1 ura po posegu	2 uri po posegu	3 ure po posegu	4 ure po posegu	5 ur po posegu	6 ur po posegu
Spontana drža							
Palpebralni refleks							
Položaj očesa							
Sproščenost čelj. in jez.							
Odziv na hrup							
Odpor pri polaganju na bok							
Splošno stanje/drža živali							
Skupaj							

Stopnja sedacije: 0–3 = ni sedacije/blaga sedacija

4–12 = zmerna sedacija

13–21 = močna sedacija

11.2 Priloga 2: Validirana numerična lestvica za ocenjevanje obnašanja

Lestvica predanestezijskega in pooperacijskega obnašanja

(Povzeto po Becker in sod., Veterinary Surgery, 2013)

Predanestezijska lestvica

1. Pes je miren in pozoren (ne sope/hodi nervozno po ambulant ali kletki*/laja) = 1
2. Zmerno se vznemiri, ko se mu kdo približa (laja/nervozno hodi po ambulant ali kletki/vleče, ko je na povodcu, vendar se ga lahko kontrolira) = 2
3. Vznemirjen ali živahen (skače/laja/nervozno hodi po ambulant ali kletki/sope/se oblizuje), med kliničnim pregledom se umiri = 3
4. Cvili, skuša pobegniti iz ambulate ali kletke, je agresiven, osebje ga ne more pomiriti, klinični pregled ni možen = 4

Pooperacijska lestvica

1. Pes je tiho ali mirno dvigne glavo, ni vznemirjen = 1
2. Pes občasno sope ali cvili ali nežno vesla s sprednjimi nogami takoj po ekstubaciji, vendar se nato umiri = 2
3. Pes občasno sope/cvili/joka = 3
4. Pes je vznemirjen, poskuša ugrizniti, se nekoordinirano meče po kletki, je neodziven na osebje = 4

* = obnašanje živali ocenjujemo v pristnosti lastnika (ambulanta) in brez prisotnosti lastnika (kletka)

Druga stran lestvice predanestezijskega in pooperacijskega obnašanja

PROSTOR ZA NALEPKO

Konec posega (čas):

	Po ekstubaciji	1 ura po posegu	2 uri po posegu	3 ure po posegu	4 ure po posegu	5 ur po posegu	6 ur po posegu

11.3 Priloga 3: Validirana sestavljena numerična lestvica za ocenjevanje bolečine (za lastnika)

Sestavljena lestvica za ocenjevanje ustne bolečine pri psih in mačkah

(Povzeto po Della Rocca in sod., Front Vet Sci., 2019)

Vprašalnik za skrbnika

Prvi pregled

Kontrolni pregled

Kakšno vrsto hrane je vaša žival?

- Suho
 - Mokro
 - Mešano
-

V1. Primerjajte, kako vaša žival je zdaj in kako je jedla v preteklosti:

- 0 Je normalno.
 - 1 Je počasneje.
 - 2 Je manj.
 - 3 Se obnaša nenavadno (npr. se obrača stran od hrane, renči na hrano, hrana ji pade iz ustne votline ob grizenju).
 - 4 Sploh ne je.
-

V2. Ali ste opazili kakšno spremembo prehranjevalnih navad glede na preteklost?

- 0 Ni spremembe.
 - 1 Pokaže interes za hrano, vendar po nekaj grizljajih odide stran od hrane.
 - 2 Kaže manjše zanimanje za hrano.
 - 3 Hrana je ne zanima.
-

V3. Ali ste opazili kakšno spremembo v socialnih stikih/pripravljenosti za igro z ljudmi in živalmi glede na preteklost?

- 0 Ni spremembe.
 - 1 Je manj aktivna kot običajno, še vedno kaže interes za igro.
 - 2 Je potrta, kaže manjši interes za interakcijo/igro.
 - 3 Je nervozna, tesnobna, včasih je agresivna do ljudi ali živali.
 - 4 Noče se več igrati/komunicirati z ljudmi in živalmi, se skriva ali leži na svojem ležišču/v svojem boku.
-

V4. Ali ste opazili kakšno spremembo pri vzdrževanju osebne higiene vaše živali glede na preteklost (nega/lizanje kože)?

- 0 Ni spremembe.
 - 1 Porabi manj časa za osebno higieno.
 - 2 Se sploh ne čisti (je umazana, kožuh je razmršen).
-

V5. Ali ste opazili kakšno spremembo fizične aktivnosti vaše živali (pri teku, hoji, ipd.) glede na preteklost?

- 0 Ni spremembe.
 - 1 Fizična aktivnost je zmanjšana.
 - 2 Popolnoma odklanja fizično aktivnost.
-

V6. Ali ste opazili eno ali več naslednjih sprememb v obnašanju?

- 1 Stokanje/jecanje.
 - 1 Povečana agresivnost in/ali nervoznost.
 - 1 Izogiba se dotikanju okoli nosu/ustne votline.
 - 1 Kaže manj zanimanja za igro, ki vključuje uporabo ustne votline (nošenje lesenih palic, igrač, ipd.).
 - 1 Pogosteje se praska okoli ustne votline.
 - 1 Težko zeha in/ali odpira ustno votlino.
 - 1 Se bolj slini in/ali pogosteje požira.
 - 1 Ima slab zadah iz ustne votline.
 - 1 Škrta z zobmi.
 - 1 Žveči, kljub temu, da nima hrane v ustni votlini.
-

11.4 Priloga 4: Validirana sestavljena numerična lestvica za ocenjevanje bolečine (za veterinarja)

Sestavljena lestvica za ocenjevanje ustne bolečine pri psih in mačkah

(Povzeto po Della Rocca in sod., Front Vet Sci., 2019)

Vprašalnik za veterinarja

Prvi pregled

V1. Žival je:

- | | |
|---|----------------------------------|
| 0 | Živahna, vesela. |
| 1 | Tiha. |
| 2 | Se ne zanima za okolico. |
| 3 | Nervozna, tesnobna, prestrašena. |
| 4 | Potrta, neodzivna na dražljaje. |

V2. Pri manipulaciji ustne votline je žival:

- | | |
|---|--|
| 0 | Mirna, sproščena. |
| 1 | Pogleduje naokoli. |
| 2 | Skuša se izogniti manipulaciji. |
| 3 | Se pritožuje. |
| 4 | Renči/piha in/ali poskuša ugrizniti/opraskati. |

V3. Ali ste med kliničnim pregledom opazili kaj od naštetega?

- | | |
|---|--|
| 1 | Povečano slinjenje (ptializem). |
| 1 | Nosni izcedek. |
| 1 | Odpor pri odpiranju ustne votline/oteženo odpiranje ustne votline. |
| 1 | Pokanje ob manipulaciji čeljustnega sklepa. |
| 1 | Atrofijo žvekalnih mišic. |
| 1 | Oteklino žvekalnih mišic. |
| 1 | Oteklino ali asimetrijo ustne votline. |
| 1 | Povečano občutljivost in/ali upiranje ob pritisku na oko. |

V4. Ali ste med kliničnim pregledom ustne votline opazili kaj od naštetega?

- | | |
|---|---|
| 1 | Zastajanje hrane v ustni votlini. |
| 1 | Slab zadah (halitoza). |
| 1 | Spontano/izzvano krvavenje dlesni. |
| 1 | Zlome zob. |
| 1 | Nepravilnosti na zobeh. |
| 1 | Zabarvanost zob. |
| 1 | Majavost zob. |
| 1 | Hipokalcifikacijo ali hipoplazijo sklenine. |
| 1 | Hiperplazijo dlesni ali prisotnost tumorjev. |
| 1 | Ulcerativne lezije sluznice ustne votline/jezika/neba/dlesni. |
| 1 | Oronazalne fistule. |
| 1 | Drenažne trakte na dlesnih ali sluznici ustne votline. |
-

Sestavljena lestvica za ocenjevanje ustne bolečine pri psih in mačkah

(Povzeto po Della Rocca et al., Front Vet Sci., 2019)

Vprašalnik za veterinarja

Kontrolni pregled

V1. Žival je:

- | | |
|---|----------------------------------|
| 0 | Živahna, vesela. |
| 1 | Tiha. |
| 2 | Se ne zanima za okolico. |
| 3 | Nervozna, tesnobna, prestrašena. |
| 4 | Potrta, neodzivna na dražljaje. |
-

V2. Pri manipulaciji ustne votline je žival:

- | | |
|---|--|
| 0 | Mirna, sproščena. |
| 1 | Pogleduje naokoli. |
| 2 | Skuša se izogniti manipulaciji. |
| 3 | Se pritožuje. |
| 4 | Renči/piha in/ali poskuša ugrizniti/opraskati. |
-

V3. Ali ste med kliničnim pregledom opazili kaj od naštetega?

- | | |
|---|--|
| 1 | Povečano slinjenje (ptializem). |
| 1 | Nosni izcedek. |
| 1 | Odpor pri odpiranju ustne votline/oteženo odpiranje ustne votline. |
| 1 | Pokanje ob manipulaciji čeljustnega sklepa. |
| 1 | Atrofijo žvekalnih mišic. |
| 1 | Oteklino žvekalnih mišic. |
| 1 | Oteklino ali asimetrijo ustne votline. |
| 1 | Povečano občutljivost in/ali upiranje ob pritisku na oko. |
-

V4. Ali ste med kliničnim pregledom ustne votline opazili kaj od naštetega?

- | | |
|---|---|
| 1 | Zastajanje hrane v ustni votlini. |
| 1 | Slab zadah (halitoza). |
| 1 | Spontano/izzvano krvavenje dlesni. |
| 1 | Zlome zob. |
| 1 | Nepravilnosti na zobeh. |
| 1 | Zabarvanost zob. |
| 1 | Majavost zob. |
| 1 | Hipokalcifikacijo ali hipoplazijo sklenine. |
| 1 | Hiperplazijo dlesni ali prisotnost tumorjev. |
| 1 | Ulcerativne lezije sluznice ustne votline/jezika/neba/dlesni. |
| 1 | Oronazalne fistule. |
| 1 | Drenažne trakte na dlesnih ali sluznici ustne votline. |
-