

**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**

Sede Amministrativa: UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento: SCIENZE CLINICHE VETERINARIE

SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN : SCIENZE VETERINARIE

INDIRIZZO: SCIENZE CLINICHE VETERINARIE

CICLO: XXIII

**STUDIO DELLA FARMACOCINETICA
DEL PROPOFOL,
PROGETTAZIONE E VALIDAZIONE DI
UN SISTEMA DI TARGET
CONTROLLED INFUSION NEL GATTO**

Direttore della Scuola : Ch.mo Prof. Massimo Morgante

Coordinatore d'Indirizzo: Ch.mo Prof. Maurizio Isola

Supervisore : Ch.mo Prof. Roberto Busetto

Dottorando : Dr. Tommaso Pilla

A Elena

INDICE

INDICE DELLE FIGURE E DELLE TABELLE.....	9
ELENCO DELLE ABBREVIAZIONI.....	13
RIASSUNTO.....	15
SUMMARY.....	19
CAPITOLO 1.	
INTRODUZIONE GENERALE E RASSEGNA DELLA LETTERATURA....	23
Introduzione.....	24
1.1. Propofol: rassegna della letteratura.....	29
1.1.1. Cenni storici e caratteristiche generali.....	29
1.1.2. Caratteristiche farmacocinetiche.....	30
1.1.3. Il modello farmacocinetico.....	34
1.1.4. Legame proteico.....	36
1.1.5. Distribuzione.....	37
1.1.6. Eliminazione.....	37
1.1.7. Metabolismo.....	38
1.1.8. Peculiarità metaboliche nella specie felina.....	41
1.1.9. Clearance.....	43
1.1.10. Escrezione.....	43
1.1.11. Caratteristiche farmacodinamiche.....	44
1.2. LA TIVA: ANESTESIA TOTALMENTE INTRAVENOSA.....	47
1.2.1. Cenni storici.....	47
1.2.2. Modalità e tecniche di somministrazione in TIVA.....	49
1.2.3. TCI: Infusione Controllata a Target.....	52
1.2.4. TIVA e TCI in medicina veterinaria.....	52
1.2.5. Validazione dei sistemi TCI.....	55
1.2.6. La TCI in ambito clinico.....	55
SCOPO DEL LAVORO.....	57

CAPITOLO 2.

STUDIO FARMACOCINETICO COMPARTIMENTALE DEL PROPOFOL NEL GATTO	59
2.1. Obiettivo dello studio	61
2.2. Materiali e metodi	61
2.2.1. Soggetti sperimentali.....	61
2.2.2. Protocollo anestesiológico	61
2.2.3. Raccolta dei campioni ematici	63
2.2.4. Determinazione delle concentrazioni di propofol	63
2.2.5. Analisi farmacocinetica.....	66
2.3. Risultati.....	68
2.4. Discussione.....	77
2.4.1. Modello compartimentale	77
2.4.2. Distribuzione	81
2.4.3. Emivita di eliminazione	82
2.4.4. Clearance e metabolismo	82

CAPITOLO 3.

SVILUPPO E ANALISI DELLA PERFORMANCE DI UN SISTEMA TCI PER IL PROPOFOL NEL GATTO	85
3.1. Introduzione	87
3.1.1. Valutazione della performance di un sistema TCI.....	88
3.2. Obiettivo del lavoro	89
3.3. Materiali e metodi	90
3.3.1. Soggetti sperimentali.....	90
3.3.2. Sistema TCI impiegato.....	90
3.3.3. Protocollo anestesiológico	92
3.3.4. Raccolta dei campioni di sangue.....	94
3.3.5. Determinazione delle concentrazioni di propofol	95
3.3.6. Analisi dei dati	96
3.4. Risultati.....	98
3.4.1. Valutazione della performance del sistema TCI.....	100
3.5. Discussione.....	107
3.5.1. Induzione dell'anestesia con TCI.....	107
3.5.2. Mantenimento dell'anestesia con TCI	109

3.5.3.	Arresto dell'infusione ed estubazione	111
3.5.4.	Valutazione della performance predittiva del sistema TCI	111
3.6.	Conclusioni	115
 CAPITOLO 4.		
 MIGLIORAMENTO E VALIDAZIONE CLINICA DI UN SISTEMA TCI PER IL PROPOFOL NEL GATTO		
		117
4.1.	Introduzione	119
4.2.	Obiettivo del lavoro	120
4.3.	Materiali e metodi	120
4.3.1.	Soggetti sperimentali	120
4.3.2.	Determinazione del modello farmacocinetico	121
4.3.3.	Sistema TCI-2.0.....	124
4.3.4.	Protocollo anestesiológico.....	125
4.3.5.	Raccolta dei campioni di sangue	129
4.3.6.	Determinazione delle concentrazioni di propofol	129
4.3.7.	Analisi statistica dei dati.....	130
4.4.	Risultati.....	132
4.4.1.	Valutazione della performance del sistema TCI	136
4.5.	Discussione.....	142
4.5.1.	Ottimizzazione del set di parametri farmacocinetici	143
4.5.2.	Valutazione della performance predittiva del sistema TCI-2.0 e confronto con il sistema TCI-1	145
4.5.3.	Induzione dell'anestesia con TCI-2.0.....	148
4.5.4.	Mantenimento dell'anestesia con TCI-2.0	151
4.5.5.	Arresto dell'infusione ed estubazione	152
4.6.	Conclusioni	153
 BIBLIOGRAFIA		157

INDICE DELLE FIGURE E DELLE TABELLE

Figura 1 Struttura chimica della molecola di propofol.....	29
Tabella 1: Parametri farmacocinetici in diverse specie animali.....	31
Tabella 2: Parametri farmacocinetici relativi ai modelli non compartimentali felini pubblicati.....	32
Figura 2 Modello farmacocinetico mammifero a tre compartimenti, raffigurante la relazione multiesponenziale tra concentrazione plasmatica di farmaco e tempo: $C_p(t) = Pe^{-\pi t} + Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t}$. V_C = Volume di distribuzione centrale, V_F = Volume di distribuzione ad equilibrio veloce e Cl_F = Clearance intercompartimentale veloce, V_S = Volume di distribuzione ad equilibrio lento, Cl_S = Clearance intercompartimentale lenta, Cl_E = Clearance di eliminazione. Tratto da Krejcie e Adam, 1999.....	34
Figura 3 Metaboliti del propofol.....	38
Figura 4 Modello farmacocinetico multi compartimentale con ricircolo. VT-F. e VT-S. sono i compartimenti a distribuzione veloce e lenta di un modello tri-compartimentale (Figura 2) mentre i compartimenti serbatoio in serie (delay elements) inclusi nella circonferenza rappresentano le componenti del suo V_c espanse. Tratta da Krejcie, 1996.....	40
Figura 5 Principali vie di biotrasformazione del propofol. (Tratto e modificato da Court et al, 2001).	42
Figura 6 Somministrazione di fentanyl per boli ripetuti (a) o in infusione continua dopo bolo di carico (b). Il paziente risponde al di sotto dei 3 ng/ml di concentrazione al sito effettore.....	50
Figura 7. Tracciato cromatografico dell'estratto di sangue di un gatto contenente propofol.....	66
Figura 8. Tracciato cromatografico relativo al campione T0, prima della somministrazione di propofol, in un soggetto dello studio. Non vi sono picchi interferenti al tempo di ritenzione del propofol (4,1 min).	68
Tabella 3: Validazione intra-laboratorio del metodo analitico per la determinazione del propofol su sangue intero.....	68
Tabella 4: Concentrazioni plasmatiche di propofol ($\mu\text{g ml}^{-1}$) nei gatti (n=7) dopo singolo bolo endovenoso di 10 mg kg^{-1} in 60 secondi.....	70
Figura 9. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol nei 7 gatti, nelle 4 ore successive all'iniezione di un singolo bolo di propofol (10 mg ml^{-1}).	71
Figura 10. Andamento delle concentrazioni plasmatiche medie di propofol nei gatti (n=7), nelle 4 ore successive all'iniezione di un singolo bolo di propofol (10 mg ml^{-1}).	71
Figura 11. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol nei singoli gatti, nelle 4 ore successive all'iniezione di un singolo bolo di propofol (10 mg ml^{-1}).	72
Tabella 5: Parametri farmacocinetici del propofol nel gatto, dopo singolo bolo IV, determinati utilizzando un modello bi-compartimentale lineare aperto.	73
Tabella 6: Parametri farmacocinetici del propofol nel gatto, dopo singolo bolo IV, determinati utilizzando un modello tri-compartimentale lineare aperto.....	74

Tabella 7: Analisi statistica descrittiva dei parametri farmacocinetici del propofol IV.	75
Figura 12. Modello farmacocinetico tri-compartimentale aperto del propofol nel gatto: rappresentazione schematica.	76
Figura 13. Distribuzione del propofol nel sangue. Dati relativi ad un ematocrito di 0,45 e concentrazioni di PPF nel sangue di $1 \mu\text{g ml}^{-1}$. I valori sono simili nel range clinicamente rilevante ($0,5-16 \mu\text{g ml}^{-1}$). Tratto da Mazoit e Samii, 1999.	80
Tabella 8: Set di parametri farmacocinetici utilizzati dal sistema TCI	91
Figura 14. Sistema di infusione TCI impiegato	91
Tabella 9 Sesso, peso ed età gatti sottoposti ad intervento di gonadectomia, anestetizzati con sistema TCI di propofol.	98
Tabella 10: Tempi di infusione totale, induzione, mantenimento (tempo totale – tempo di induzione) e estubazione (da fine infusione a risveglio).	98
Tabella 11: Dosi di propofol (mg/kg) di induzione, mantenimento e velocità media dell'infusione di mantenimento (mg/kg/min).	99
Tabella 12: Valori di MDPE, MDAPE, divergenza e wobble calcolati nei 9 gatti sottoposti ad anestesia con un sistema TCI con PPF e loro media, mediana e deviazione standard.	100
Figura 15. Soggetto 1. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione di un sistema TCI con PPF.	101
Figura 16. Soggetto 2. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione di un sistema TCI con PPF.	101
Figura 17. Soggetto 3. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione di un sistema TCI con PPF.	102
Figura 18. Soggetto 4. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione di un sistema TCI con PPF.	102
Figura 19. Soggetto 5. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione di un sistema TCI con PPF.	103
Figura 20. Soggetto 6. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione di un sistema TCI con PPF.	103
Figura 21. Soggetto 7. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione di un sistema TCI con PPF.	104
Figura 22. Soggetto 8. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione di un sistema TCI con PPF.	104
Figura 23. Soggetto 9. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione di un sistema TCI con PPF.	105
Figura 24. Grafico di dispersione delle concentrazioni plasmatiche target previste rispetto alle concentrazioni plasmatiche misurate con HPLC; la linea continua rappresenta la performance ideale con $PE\%=0$.	105

Figura 25. Grafico di dispersione del PE% rispetto al tempo nei 9 gatti sottoposti ad anestesia con un sistema TCI con PPF; la linea tratteggiata indica la regressione lineare e corrisponde alla divergenza del PE%.....	106
Figura 26. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione del sistema TCI-1 sul un soggetto. È evidente un eccessivo guadagno nel sistema, che porta alla sottostima generale dei valori target.	122
Figura 27. Concentrazioni plasmatiche misurate e stimate (linea continua), nella fase di induzione, durante l'applicazione del sistema TCI-1 in quattro soggetti. Si osservano concentrazioni plasmatiche iniziali sottostimate, con un successivo decremento delle stesse.....	122
Figura 28. Esempio di simulazioni delle concentrazioni previste mantenendo costante il regime infusionale con diversi set farmacocinetici. TCI-1: set originario; a: $V_1=700$ ml/kg, $k_{10}=0,04$ min ⁻¹ , $k_{12}=0,79$ min ⁻¹ , $k_{13}=0,05$ min ⁻¹ , $k_{21}=0,24$ min ⁻¹ , $k_{31}=0,02$ min ⁻¹ ; b: $V_1=700$ ml/kg, $k_{10}=0,04$ min ⁻¹ , $k_{12}=0,45$ min ⁻¹ , $k_{13}=0,05$ min ⁻¹ , $k_{21}=0,4$ min ⁻¹ , $k_{31}=0,02$ min ⁻¹ ; c: $V_1=500$ ml/kg, $k_{10}=0,04$ min ⁻¹ , $k_{12}=0,79$ min ⁻¹ , $k_{13}=0,04$ min ⁻¹ , $k_{21}=0,3$ min ⁻¹ , $k_{31}=0,03$ min ⁻¹ ; d: $V_1=600$ ml/kg, $k_{10}=0,04$ min ⁻¹ , $k_{12}=0,60$ min ⁻¹ , $k_{13}=0,05$ min ⁻¹ , $k_{21}=0,4$ min ⁻¹ , $k_{31}=0,02$ min ⁻¹ ; e: $V_1=600$ ml/kg, $k_{10}=0,06$ min ⁻¹ , $k_{12}=0,6$ min ⁻¹ , $k_{13}=0,05$ min ⁻¹ , $k_{21}=0,4$ min ⁻¹ , $k_{31}=0,02$ min ⁻¹ ; f: $V_1=350$ ml/kg, $k_{10}=0,04$ min ⁻¹ , $k_{12}=0,45$ min ⁻¹ , $k_{13}=0,05$ min ⁻¹ , $k_{21}=0,4$ min ⁻¹ , $k_{31}=0,02$ min ⁻¹ ; g: $V_1=320$ ml/kg, $k_{10}=0,07$ min ⁻¹ , $k_{12}=0,1$ min ⁻¹ , $k_{13}=0,04$ min ⁻¹ , $k_{21}=0,4$ min ⁻¹ , $k_{31}=0,01$ min ⁻¹	123
Figura 29. Esempio relativo ad una simulazione effettuata con due set farmacocinetici diversi sulla base dello schema infusionale utilizzato dal primo sistema. TCI-1: farmacocinetica originaria; TCI-1.2: $V_1=300$ ml/kg, $k_{10}=0,08$ min ⁻¹ , $k_{12}=0,1$ min ⁻¹ , $k_{13}=0,04$ min ⁻¹ , $k_{21}=0,4$ min ⁻¹ , $k_{31}=0,01$ min ⁻¹ ; TCI-2.0= $V_1=350$ ml/kg, $k_{10}=0,06$ min ⁻¹ , $k_{12}=0,1$ min ⁻¹ , $k_{13}=0,04$ min ⁻¹ , $k_{21}=0,4$ min ⁻¹ , $k_{31}=0,01$ min ⁻¹	124
Tabella 13: Set di parametri farmacocinetici utilizzati dal sistema TCI modificato (TCI-2.0).....	125
Tabella 14: Sesso, peso ed età dei gatti dei due gruppi TCI-1 (n.=9) e TCI-2.0 (n=6), sottoposti ad intervento di gonadectomia, anestetizzati con due sistemi TCI di propofol. *Differenza statisticamente significativa (p <0,05).....	133
Tabella 15: Tempi di infusione totale, induzione, mantenimento (tempo totale – tempo di induzione) e estubazione (da fine infusione a risveglio) dei gatti nei due gruppi TCI-1 (n.=9) e TCI-2.0 (n=6), sottoposti ad intervento di gonadectomia, anestetizzati con due sistemi TCI di propofol. *Differenza statisticamente significativa (p <0,05).	134
Tabella 16: Dosi di propofol (mg/kg) di induzione, mantenimento e velocità media dell'infusione di mantenimento (mg/kg/min). dei gatti nei due gruppi TCI-1 (n.=9) e TCI-2.0 (n=6), sottoposti ad intervento di gonadectomia, anestetizzati con due sistemi TCI di propofol. *Differenza statisticamente significativa (p <0,05).	135
Tabella 17: Valori di MDPE, MDAPE, divergenza e wobble calcolati nei 9 gatti sottoposti ad anestesia con un sistema TCI con PPF e loro media, mediana e deviazione standard. *Differenza statisticamente significativa (p <0,05). † Differenza statisticamente significativa escludendo dalla media del gruppo 1 il soggetto n.7, nettamente outlier (p <0,05).	136

Figura 30. Soggetto 10. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione del sistema TCI-2.0 con PPF.....	138
Figura 31. Soggetto 11. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione del sistema TCI-2.0 con PPF.....	138
Figura 32. Soggetto 12. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione del sistema TCI-2.0 con PPF.....	139
Figura 33. Soggetto 13. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione del sistema TCI-2.0 con PPF.....	139
Figura 34. Soggetto 14. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione del sistema TCI-2.0 con PPF.....	139
Figura 35. Soggetto 15. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione del sistema TCI-2.0 con PPF.....	140
Figura 36. Grafico di dispersione delle concentrazioni plasmatiche target previste rispetto alle concentrazioni plasmatiche misurate con HPLC nei due gruppi; la linea continua rappresenta la performance ideale con PE%=0.	140
Figura 37. MDPE% nei due gruppi. La linea continua indica la mediana del gruppo.	141
Figura 38. MDAPE% nei due gruppi. La linea continua indica la mediana del gruppo.....	141
Figura 39. Divergenza nei due gruppi. La linea continua indica la mediana del gruppo.....	141
Figura 40. Wobble nei due gruppi. La linea continua indica la mediana del gruppo.	142

ELENCO DELLE ABBREVIAZIONI

ABP	Pressione arteriosa
AUC	Area under the curve
CCIP	<i>Computer Control Infusion Pump</i>
Cl	Clearance
CLD2	Clearance di distribuzione per il compartimento rapido
CLD3	Clearance di distribuzione per il compartimento lento
Cmax	Concentrazione massima
CO	<i>Cardiac output</i> (Gittata cardiaca)
CRI	<i>Constant rate infusion</i> (Infusione continua)
CYP	Citocromo P450
ECG	Elettrocardiogramma
GR	Globuli rossi
h	Ora
K12, K21	Costanti di trasferimento tra compartimento centrale e rapido
K13, K31	Costanti di trasferimento tra compartimento centrale e lento
K10	Costante di eliminazione dal compartimento centrale
K10 HL	Costante di eliminazione
L	Litro
LdQ	Limite di quantificazione
mg	Milligrammo
min	Minuto
ml	Millilitro
µg	Microgrammo
µl	Microlitro
PD	Farmacodinamica
PK	Farmacocinetica
PPF	Propofol
SC	Sottocutaneo

sec	Secondo
SI	Stepped Infusion
SNC	Sistema nervoso centrale
TCI	<i>Target Controlled Infusion</i> (Infusione controllata ad obiettivo)
TIVA	<i>Total intravenous anesthesia</i> (Anestesia totalmente intravenosa)
UGT	Uridina difosfato glucuroniltransferasi
$t_{1/2\alpha}$	Emivita di distribuzione rapida
$t_{1/2\beta}$	Emivita di distribuzione lenta
$t_{1/2\gamma}$	Emivita di eliminazione
V1	Compartimento centrale
V2	Compartimento a rapida distribuzione
V3	Compartimento a lenta distribuzione
V _{ss}	Volume di distribuzione allo stato stazionario

RIASSUNTO

L'anestesia totalmente endovenosa (TIVA) è ancora un campo in via di sviluppo. Il progresso tecnologico rende le apparecchiature per infusione sempre più sofisticate, affidabili e sicure. I sistemi infusionali più recenti sono sviluppati incorporando in un microprocessore i parametri farmacocinetici e farmacodinamici dell'anestetico impiegato, per la popolazione in oggetto.

Il fine di questo progetto di ricerca è stato quello di sviluppare e validare un sistema di infusione controllata a target (TCI) per il propofol nel gatto domestico.

In questa specie, le conoscenze relative al comportamento del propofol nell'ambito dell'infusione continua sono ancora poche e spesso contraddittorie.

È noto che il gatto differisca sostanzialmente dagli altri animali nell'abilità di formare coniugati glucuronidi di alcuni xenobiotici ed in particolare dei derivati fenolici a basso peso molecolare. Un metodo di infusione del propofol in TIVA, che permetta di prevedere in modo più accurato possibile l'effettivo comportamento del farmaco e la concentrazione in ogni istante, può permettere di ridurre i rischi perianestetici e di migliorare la qualità dell'anestesia.

Non esistendo nella letteratura una farmacocinetica tricompartmentale del propofol nel gatto, la prima parte del lavoro è stata dedicata allo studio del modello farmacocinetico su 7 gatti sottoposti a gonadectomia, premedicati con medetomidina, ketamina e metadone, anestetizzati con propofol e mantenuti in anestesia con isofluorano.

È stato possibile ottenere un modello farmacocinetico bi-compartmentale ed uno tri-compartmentale. Il modello più appropriato per rappresentare la curva di concentrazione plasmatica nel tempo è stato quello tri-compartmentale, sulla base dell'aspetto delle concentrazioni osservate e predette, della riduzione della somma dei quadrati residui e dell'applicazione del test di verifica delle informazioni di Akaike.

I dati di farmacocinetica tri-compartmentale estrapolati nella prima parte del progetto sono stati utilizzati per programmare il sistema di TCI prototipo (TCI-1), basato sul software gratuito *Computer Control Infusion Pump* (CCIP) Ver 2.0E, disponibile in rete (<http://www.cuhk.edu.hk/med/ans/software.htm>).

È stata analizzata la *performance* del sistema TCI-1 durante l'anestesia per interventi chirurgici di gonadectomia, su 9 gatti premedicati, e sono state studiate le concentrazioni *target* di induzione, mantenimento e risveglio.

La concentrazione plasmatica, misurata con HPLC, nel sangue venoso, due minuti dopo l'intubazione è stata in media di $4,92 \pm 2,43 \mu\text{g ml}^{-1}$, quella di mantenimento $4,74 \pm 2,70 \mu\text{g ml}^{-1}$.

Gli indici di errore del sistema, MDPE%, MDAPE%, divergenza (%/ora) e wobble, calcolati secondo quanto descritto da Varvel et al. (1992), riportati come mediana [10 / 90 percentile], sono stati pari a 63,50 [31,24 / 151,93], 63,50 [32,28 / 151,93], -22,77 [-331 / 26,57], 20,32 [9,8 / 43,10], rispettivamente. Il sistema, nonostante si sia rivelato maneggevole nell'utilizzo clinico, ha sensibilmente sottostimato le concentrazioni effettive, come previsto per una farmacocinetica derivata da bolo singolo.

La fase successiva è stata quella di ottimizzazione del sistema TCI-1, modificando il set farmacocinetico attraverso simulazioni al computer. Il nuovo sistema (TCI-2.0) è stato sottoposto a valutazione delle performances predittive, su 6 gatti, calcolando MDPE%, MDAPE%, divergenza (%/ora) e wobble ed è stato messo a confronto, per i risultati ottenuti, con al sistema TCI-1.

La concentrazione plasmatica, misurata con HPLC, nel sangue venoso dei gatti, due minuti dopo l'intubazione è stata in media di $3,23 \pm 0,87 \mu\text{g kg}^{-1}$.

La concentrazione plasmatica *target* media di mantenimento, calcolata come la media dei *target* impostati nel sistema durante l'anestesia, è stata pari a $6,44 \pm 1,27 \mu\text{g ml}^{-1}$, la media delle concentrazioni misurate con HPLC, nello stesso periodo temporale, è risultata pari a $5,56 \pm 2,46 \mu\text{g ml}^{-1}$. I valori di MDPE%, MDAPE%, divergenza e wobble, riportati come mediana [10 / 90 percentile], sono stati pari a -1,85 [-35,19 / 31,08], 29,67 [16,85 / 43,93], -39,08 [-50,02 / 8,23], 18,93 [10,49 / 25,01], rispettivamente. Le curve di predizione ottenute dal sistema TCI-2.0 sono state vicine a quelle relative ai valori di concentrazione plasmatica realmente misurati. I valori ottenuti per MDPE e MDAPE rientrano nei range descritti in medicina umana e veterinaria, per la validazione di sistemi TCI in ambito clinico (MDPE < $\pm 20\%$ e MDAPE < 30-40%). La differenza di accuratezza e deviazione osservata tra i due sistemi TCI-1 e TCI-2.0 è stata significativa. Sono stati

confrontati anche i tempi e le dosi di induzione, mantenimento ed estubazione. Non sono risultate esserci, tra i due sistemi differenze significative per dosi e tempi di somministrazione ed estubazione.

I risultati ottenuti sono, secondo il parere degli autori, di significativa rilevanza scientifica, poiché forniscono:

- Un modello farmacocinetico tri-compartimentale del propofol nel gatto, non descritto prima in letteratura.
- Un sistema TCI con propofol nel gatto, validato per performances di predizione, facilmente fruibile in ambito clinico.
- Dei valori di riferimento per le concentrazioni plasmatiche di propofol, necessarie per l'intubazione, il mantenimento e l'estubazione in gatti premedicati con medetomidina, ketamina e metadone, anestetizzati con infusione di propofol a target.

SUMMARY

Total intravenous anesthesia (TIVA) is an actual topic and a still developing research area. Technological progress makes equipment for infusion increasingly sophisticated, reliable and safe. Latest infusion systems have been developed incorporating microprocessors and algorithms based on the drug's pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters for the population involved.

The aim of this research project was to develop and validate a system for target-controlled infusion (TCI) for administering propofol to domestic cats.

Knowledge on behavior of propofol, administered as a continuous infusion in cats are, at present, still few and sometimes contradictory.

It is well known that cats differ substantially from other animals in the ability to form glucuronide conjugates of some xenobiotics, particularly low molecular weight phenolic derivatives. A system for propofol infusion, allowing to predict as accurately as possible, the actual behavior of the drug and the concentrations at any time-point of anesthesia, may help reducing perianesthetic risk and improve quality of anesthesia.

As no publications could be found reporting three-compartment pharmacokinetics for propofol in cats, the first part of the this work was dedicated to the development of a pharmacokinetic model, on 7 cats, premedicated with medetomidine, ketamine and methadone, anesthetized with propofol and maintained with isoflurane anesthesia, during gonadectomy.

A two-compartment and a three-compartment pharmacokinetic linear model were obtained, the latter being considered the most appropriate to describe plasma concentration-time profile, based on appearance of observed and predicted concentrations and determined by least square linear regression and applying Akaike's information criterion.

The tri-compartmental pharmacokinetic data obtained in the first part of the project were used for implementation of a TCI system prototype (TCI-1), based on the free software, Computer Control Infusion Pump (CCIP) Ver 2.0E, available online ([http: / / www.cuhk.edu.hk / med / ans / softwares.htm](http://www.cuhk.edu.hk/med/ans/software.htm)).

We analyzed the performance of the TCI-1 system during the course of anesthesia for gonadectomy in 9 premedicated cats, and target concentrations for induction, maintenance and extubation were reported.

The mean concentration, as measured by HPLC, in venous blood, two minutes after intubation was $4.92 \pm 2.43 \mu\text{g ml}^{-1}$ and for maintenance, $4.74 \pm 2.70 \mu\text{g ml}^{-1}$.

The indices for system prediction error, MDPE%, MDAPE%, divergence (% / hour) and wobble, calculated as described by Varvel et al. (1992), reported as median [10 / 90 percentile], were 63.50 [31.24 / 151.93], 63.50 [32.28 / 151.93], -22.77 [- 331 / 26.57], 20.32 [9.8 / 43.10], respectively. Despite it has demonstrated to be manageable in its clinical use, the system has significantly underestimated the actual concentrations, as expected for a single bolus derived pharmacokinetic model.

The next step was to optimize the TCI-1 system, modifying the pharmacokinetic data set through computer simulations. The new system (TCI-2.0) was assessed for predictive performance, in 6 cats, calculating MDPE%, MDAPE%, divergence (%/hours) and wobble, and it was compared to the results obtained with the TCI-1 system.

Mean concentration, measured by HPLC, in venous blood of cats, two minutes after intubation was $3.23 \pm 0.87 \mu\text{g kg}^{-1}$.

Mean maintenance target concentration, calculated as the mean of targets set introduced in the system, during anesthesia, was $6.44 \pm 1.27 \mu\text{g ml}^{-1}$, while average concentrations measured by HPLC during the same time period, was $5.56 \pm 2.46 \mu\text{g ml}^{-1}$. Values of MDPE%, MDAPE%, divergence and wobble, reported as median [10 / 90 percentile], were -1.85 [-35.19 / 31.08], 29.67 [16.85 / 43.93], -39.08 [-50.02 / 8.23], 18.93 [10.49 / 25.01], respectively. Prediction curves, obtained by the system TCI-2.0 were similar to actually measured plasma concentrations. The resulting values for MDPE and MDAPE fall within the range described in human and veterinary literature for the validation of TCI systems in the clinical setting (MDPE $<\pm 20\%$ and MDAPE $<30\text{-}40\%$). Difference in accuracy and bias observed between the two systems, TCI-1 and TCI-2.0 were statistically significant. Timing and dose of induction, maintenance, and extubation were also compared. Differences between the two systems, for doses and timing of administration and extubation, were not found to be statistically significant.

Obtained results are, in the author's opinion, of significant scientific relevance, as they provide:

- A three-compartment pharmacokinetic model for propofol in cats, never described previously in the literature.
- A TCI system for propofol administration in cats, validated for prediction performance and easy to use in a clinical setting.
- reference values for plasma concentrations of propofol required for intubation, maintenance of anesthesia and extubation, in cats premedicated with medetomidine, ketamine and methadone, anesthetized with target infusion of propofol.

CAPITOLO 1.

INTRODUZIONE GENERALE E RASSEGNA DELLA LETTERATURA

INTRODUZIONE

Il Propofol, 2,6-di-isopropylfenolo (PPF) è un farmaco anestetico rapidamente metabolizzato, con caratteristiche ipnotiche e sedative. Viene somministrato, nei piccoli animali domestici, per via endovenosa, prevalentemente in singolo bolo o in boli ripetuti, per ottenere uno stato di sedazione rapidamente reversibile o l'induzione dell'anestesia generale (Glowaski e Wetmore, 1999).

Le proprietà anestetiche del 2,6-diisopropylfenenolo sono state per la prima volta descritte nel gennaio 1973 dalla ICI¹ ed il farmaco codificato come ICI 35.868 (James e Glen, 1980; Thompson e Goodale, 2000). I primi studi clinici sono stati condotti da Kay e Rolly, in Europa nel 1977, usando una preparazione all'1% in Cremophor EL. Le proprietà farmacologiche e farmacocinetiche della formulazione disciolta in Cremophor EL sono state studiate sia nell'uomo che negli animali domestici (Glen JB, 1980; Glen et al, 1980; Dutta et al, 1997); tuttavia l'alta incidenza di reazioni anafilattiche con questa formulazione ne ha presto interrotto lo sviluppo (Briggs et al, 1982). Il propofol in emulsione olio in acqua o a base lipidica è stato oggetto di valutazione in studi clinici condotti in Europa nel 1983 e negli Stati Uniti nel 1984. Le proprietà anestetiche sono risultate sovrapponibili alla formulazione in Cremophor EL senza, tuttavia, il riscontro di reazioni di tipo anafilattico (Cummings et al, 1984). Il propofol in emulsione lipidica è stato quindi lanciato nel Regno Unito e in Nuova Zelanda nel 1986 e negli Stati Uniti nel novembre 1989.

Nella pratica clinica veterinaria, il mantenimento dell'anestesia è, di norma, ottenuto tramite la somministrazione di potenti anestetici inalatori quali isofluorano, sevofluorano e, più raramente desflurano. Tali agenti garantiscono una depressione progressiva e controllata del SNC; tuttavia, essi inducono anche una depressione dei sistemi cardiovascolare e respiratorio, in modo dose-dipendente (Steffey e Howland, 1977). A fronte dei numerosi ed innegabili vantaggi offerti dagli anestetici alogenati, esistono degli svantaggi generici e delle controindicazioni più specifiche, che hanno portato alla ricerca di possibili alternative. La tecnica inalatoria necessita di costosi

¹ Imperial Chemical Industries (ICI) è una industria chimica britannica. Nel 1993 la compagnia ha trasferito la produzione farmaceutica in Zeneca Group, fusa successivamente con Astra AB, formando AstraZeneca PLC.

apparati, pone problemi di ordine sanitario per il personale esposto, contribuisce all'inquinamento atmosferico e non è impiegabile in particolari circostanze cliniche, come nella terapia intensiva o per specifiche procedure quali la broncoscopia in pazienti di dimensioni ridotte come il gatto (Johnson e Drazenovich, 2007). L'anestesia totalmente intravenosa (TIVA) è, ai giorni nostri, una tecnica molto popolare in medicina umana e in medicina veterinaria è stata largamente impiegata, in passato, soprattutto in ambito equino. La tecnica ha acquisito, più recentemente, un rinnovato interesse in anestesia veterinaria, per i vantaggi che essa offre rispetto alle tecniche inalatorie e grazie allo sviluppo di anestetici iniettabili, quali il propofol, che consentono un agevole controllo della profondità dell'anestesia ed una rapida ripresa (Beths et al, 2001; Ilkiw e Pascoe, 2003).

Il PPF sembra offrire una valida alternativa ad altri anestetici iniettabili quali tiopentale sodico e ketamina (Kanto e Gepts, 1989), essendo associato nella pratica clinica ad induzione e risveglio rapidi e gradualmente (Brearley et al, 1988; Geel JK, 1991). Dopo somministrazione intravenosa, il farmaco subisce una rapida redistribuzione dal compartimento plasmatico agli altri tessuti, con una conseguente diminuzione delle concentrazioni plasmatiche e cerebrali; la clearance metabolica è anch'essa rapida, rendendo, di fatto, il farmaco ideale per l'uso infusione. In contrasto con quanto osservato per l'alfaxalone/alfadolone, non sono descritte reazioni allergiche di tipo immuno-mediato (Brearley et al, 1988); non sono riportate, peraltro, reazioni avverse a seguito di accidentale iniezione perivascolare, rendendolo, in tal senso, vantaggioso rispetto al tiopentale sodico (Liehmann et al, 2006, Morgan e Legge, 1989; Brearley et al, 1988).

La TIVA tramite infusione continua (CRI) produce e mantiene un piano anestetico nettamente più stabile rispetto all'uso dei boli intermittenti, oltre ad essere più economica in termini di farmaco totale impiegato (Fragen, 1991). Nonostante la scarsa letteratura riguardante la farmacocinetica del PPF nel gatto, diversi *reports* clinici avallano la possibilità di utilizzare il farmaco per la TIVA anche in questa specie. Sono stati descritti diversi protocolli di infusione manuale nel gatto (Ilkiw e Pascoe, 2003; Heldmann et al, 1999; Johnson e Drazenovich, 2007), ma il progresso tecnologico nel campo informatico renderebbe possibile lo sviluppo di sistemi di infusione ad obiettivo capaci di somministrare il PPF ad una concentrazione

plasmatica predetta, impostata dall'anestesista. Tali sistemi di infusione controllati a *target* (TCI systems) permettono all'anestesista di variare la profondità dell'anestesia con modalità e semplicità del tutto simili a quelle realizzabili con un vaporizzatore calibrato ed un anestetico inalatorio.

I sistemi TCI con PPF sono stati sperimentati nel paziente umano in un ampio spettro di procedure, dalla sedazione (Leslie et al, 2008) alle chirurgie oftalmiche e cardiache in pazienti ad alto rischio anestesiológico (Ryu et al, 2010; Macquaire et al, 2002). La tecnica è stata impiegata anche nella sedazione cosciente per intubazione del paziente sveglio (Rai et al, 2008) e nell'ambito della terapia intensiva (Snellen et al, 1990). Lo studio di modelli farmacocinetici per specifiche popolazioni razziali e di età ha reso i sistemi TCI sempre più versatili in situazioni cliniche diverse, spostando l'interesse nei loro confronti dal puro ambito sperimentale alla pratica clinica quotidiana.

In veterinaria l'uso della TCI è agli albori, ne è segnalato l'uso nel ratto, nel pony e nel cane (Levionnois et al, 2010; Hacker et al, 2005). Pilla et al, nel 2010 hanno riportato l'impiego di un sistema prototipo di TCI con propofol in un gatto sottoposto a chirurgia, utilizzando tuttavia, un *set* di variabili farmacocinetiche non validate. Solamente nel cane e nel cavallo un sistema TCI ha avuto una validazione pubblicata (Beths et al, 2001; Levionnois et al, 2010) e nel primo inizia ad essere impiegato anche nella pratica clinica (Musk et al, 2005; Beier et al, 2009; Musk et al, 2007).

Un recente sondaggio sull'impiego di sistemi per la somministrazione di anestetici basata sulla farmacocinetica, nei piccoli animali in Italia, riporta che il 47,9% dei rispondenti, utilizza un sistema di somministrazione dei farmaci derivato da un modello farmacocinetico (Novello e Carobbi, 2010).

La somministrazione di PPF in CRI nel gatto è stata testata sperimentalmente e clinicamente con buoni risultati relativamente a stabilità emodinamica, rapidità e qualità di induzione e risveglio (Ilkiw e Pascoe, 2003; Morgan e Legge, 1989). Non esiste, ad oggi, un sistema validato in tale specie per la somministrazione di propofol controllata a *target*.

Il concetto di un'infusione controllata da un microprocessore è stato introdotto da Schwilden (1981). White e Kenny nel 1990 svilupparono un sistema portatile di infusione per il propofol costituito, inizialmente, da una pompa per siringhe Graseby

3400, controllata da un computer. Il microprocessore ed il software sono stati successivamente integrati nella pompa. Il software per la somministrazione del propofol nell'uomo (Diprifusor; Zeneca) e quelli impiegati nel cane consistono, semplificando, di un modello farmacocinetico, di un set di variabili farmacocinetiche specifiche per la popolazione in oggetto e di algoritmi per il controllo dell'infusione. Per lo sviluppo di un sistema prototipo impiegabile nel gatto è necessario disporre di un set di parametri (V_1, K_{10} e le costanti di trasferimento $K_{12}, K_{21}, K_{13}, K_{31}$ ²), che descrivano la farmacocinetica compartimentale del propofol in questa specie. A conoscenza dell'autore non esiste ad oggi una farmacocinetica tricompartimentale pubblicata per il gatto, essendo essa descritta unicamente da modelli non compartimentali (Adam et al, 1980; Cleale et al, 2009). Lo studio di un modello farmacocinetico tricompartimentale è, quindi, il primo obiettivo nella messa a punto di un sistema di infusione controllato ad obiettivo.

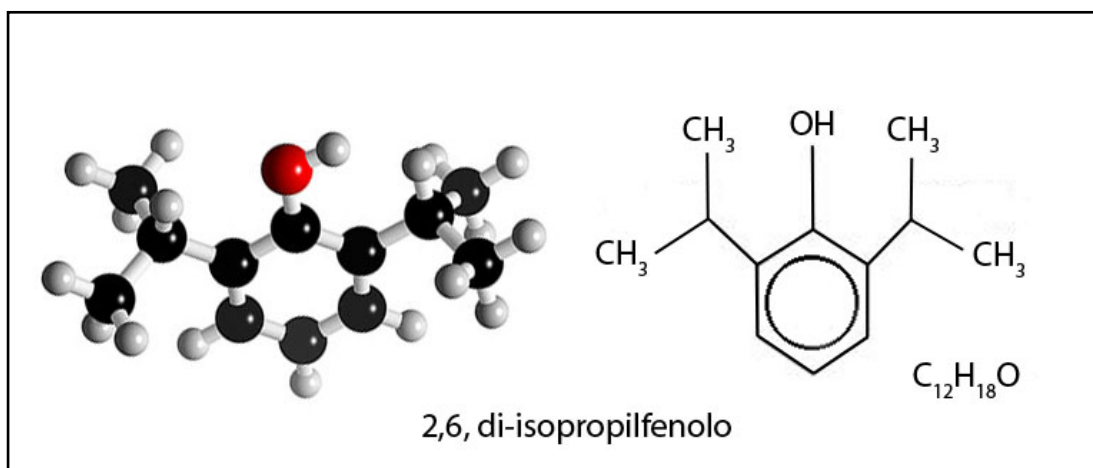
² V_1 : Volume del compartimento centrale; K_{10} : Costante di eliminazione; $K_{12}, K_{21}, K_{13}, K_{31}$: costanti di trasferimento tra i compartimenti V_1, V_2 e V_3 .

1.1. PROPOFOL: RASSEGNA DELLA LETTERATURA

1.1.1. Cenni storici e caratteristiche generali

Il propofol (2,6,di-isopropilfenolo) è un anestetico endovenoso a breve durata d'azione rapidamente metabolizzato, insolubile in acqua, ma altamente liposolubile. Inizialmente disciolto in Cremophor EL (1977), a causa di alcuni effetti collaterali tra cui dolore all'iniezione e reazioni anafilattiche complemento-mediate, legate all'eccipiente stesso, dovette essere radicalmente riformulato (Glen e Hunter, 1984).

Figura 1 Struttura chimica della molecola di propofol.



A partire dal 1986 è stato commercializzato come emulsione all'1% in olio di semi di soia 10%, glicerolo al 2,25% e lecitina d'uovo all'1,2%. Nonostante con questa formulazione siano stati risolti i problemi legati a reazioni complemento-mediate, il fenomeno del dolore all'iniezione rimane un effetto indesiderato descritto nell'uomo (McCulloch e Lees, 1985; Kanto, 1988; Mirakhur, 1988; Scott et al, 1988; Mangar and Holak, 1992).

Il propofol ha peso molecolare di 178 e pKa di 11. Avendo la formulazione pH neutro ed essendo privo di conservanti, in essa è possibile la proliferazione batterica e la produzione di endotossine (Berry et al, 1993; Quinn et al, 1993; Sosis e Braverman, 1993; Sosis et al, 1995; Aydin et al, 2002; Joubert et al, 2005; Strachan

2008) e di conseguenza devono essere garantite condizioni di utilizzo e conservazione aseptiche (Lorenz et al, 2002).

Il propofol è autorizzato nel cane e nel gatto, ma il suo utilizzo è riportato anche in altre specie, sia come agente per l'induzione che per l'uso in TIVA (Nolan and Hall, 1985; Mama et al, 1995; Correia et al, 1996; Duke et al, 1997; Schumacher et al, 1997; Machin and Caulkett, 1998; Bennett, 1998; Bennett et al, 1998; Matthews et al, 1999; Bettschart-Wolfensberger et al, 2001a, 2001b; Hawkins et al, 2003; Bettschart-Wolfensberger et al, 2005; Oku et al, 2005; Umar et al, 2006, 2007).

1.1.2. Caratteristiche farmacocinetiche

I parametri di farmacocinetica (PK) del PPF sono stati studiati in diverse specie animali ed alcuni di essi sono schematizzati nella Tabella 1.

I dati di PK per il PPF nel gatto (Tabella 2) sono descritti unicamente in due lavori e il progetto di tali studi prevedeva per il primo una descrizione della PK tramite modello bicompartimentale, su quattro soggetti, per il più recente, tramite modello non compartimentale (Adam et al, 1980; Cleale et al, 2009).

Uno dei punti cardine nello spiegare il grande successo clinico che il PPF ha conosciuto dalla sua introduzione sul mercato, è il suo profilo PK unico, in particolare la capacità di redistribuzione e la rapida clearance metabolica.

In tutte le specie, dopo un singolo bolo endovenoso rapido, il livello plasmatico di PPF decresce nel tempo con tipico andamento curvilineo; il profilo farmacocinetico è abitualmente descritto dalla somma di due o tre funzioni esponenziali:

1. Veloce distribuzione dal compartimento plasmatico ai tessuti: La concentrazione plasmatica di PPF diminuisce rapidamente come risultato della sua distribuzione dal sangue e dai tessuti altamente vascolarizzati, come il cervello, agli organi e compartimenti a minore e molto scarsa vascolarizzazione, quali muscoli e grasso rispettivamente (Short e Bufalari, 1999).
2. Rapida *clearance* metabolica dal sangue.
3. Lento ritorno del farmaco dal compartimento a più scarsa perfusione (tessuto adiposo) al compartimento plasmatico (Cockshott, 1985).

Tabella 1: Parametri farmacocinetici in diverse specie animali.

Studio	Specie	Dose	Com-parti-menti	T½ α min	T½ β min	T½ γ min	Vd _{SS} ml Kg ⁻¹	Vd _{area} ml Kg ⁻¹	Cl _{β} ml min ⁻¹ Kg ⁻¹
Cockshott et al, 1992.	Cane	7 mg Kg ⁻¹	3	4,2	31	303	1140		76
	Ratto	9,3 mg Kg ⁻¹	3	3,5	33	383	996		72
	Suino	2,5 mg Kg ⁻¹	2	4,9	57		620		76
	Coniglio	5 mg Kg ⁻¹	2	2,1	17		460		337
Nolan e Reid, 1993.	Cane	6,5 mg Kg ⁻¹	2-3		90,0		6598	4889	58,6
Zoran et al, 1993.	Cane (Razze Miste)		2	7,671	122,04		9748		114,8
Zoran et al, 1993.	Cane Levrieri		2	10,9	175,6		6289		54
Reid et al, 1993.	Capra	4 mg Kg ⁻¹ min ⁻¹	2	0,705	15,46		2560	6235	275
Hall et al, 1994.	Cane	0,4 mg Kg ⁻¹ min ⁻¹			486,2		6040		34,4
Nolan et al, 1996.	Cavallo	0,5 mg Kg ⁻¹			69		894		33,1

Studio	Specie	Dose	Compartimenti	T _{1/2} α min	T _{1/2} β min	T _{1/2} γ min	Vd _{SS} ml Kg ⁻¹	Vd _{area} ml Kg ⁻¹	Cl _β ml min ⁻¹ Kg ⁻¹
Correia e Nolan, 1996.	Pecora	4 mg Kg ⁻¹ 0,3-0,5 mgKg ⁻¹ min ⁻¹			56,6		1037		85,4
Cagnardi et al, 2009	Bovino	4 mg Kg ⁻¹	2	5,4	196,2		3255.18		19,71

T_{1/2}α, T_{1/2}β e T_{1/2}γ = Tempo di emivita plasmatica relativo alle curve di decadimento α, β e γ; Vd_{SS} = Volume di distribuzione apparente allo stato stazionario; Vd_{area} = Volume di distribuzione apparente basato sull'area sottesa alla curva (AUC); Cl_β = Total body clearance.

Tabella 2: Parametri farmacocinetici relativi ai modelli non compartimentali felini pubblicati.

Studio	N	Dose mg kg ⁻¹	AUC ng h ml ⁻¹	C _{max} ng ml ⁻¹	T _{max} h	T _{1/2} α min	T _{1/2} β ‡ min † h	Cl _β ml Kg ⁻¹ h ⁻¹	Vd _{SS} ‡ % peso † ml Kg ⁻¹
Adam et al, 1980‡	4	15				5,8 ±0,4	‡ 55 ± 3		‡ 90 ± 16
Cleale et al, 2009†	10	7	6962 ±1251	7062 ±2322	0,105 ±0,079		† 8,795 ±1,643	1032 ±165	† 6830 ±2140

T_{1/2}α, T_{1/2}β = Tempo di emivita plasmatica relativo alle curve di decadimento α e β; Vd_{SS} = Volume di distribuzione apparente allo stato stazionario; AUC = Area sottesa alla curva; Cl_β = Total body clearance.

La clearance del farmaco è generalmente molto rapida e, come verrà approfondito più avanti (Capitoli 1.1.7 e 1.1.9), eccede la perfusione epatica, facendo pensare che possa esistere un sito di metabolismo extraepatico. Tale ipotesi ha trovato ulteriore conferma in un lavoro nel quale sono stati misurati metaboliti del PPF durante la fase anepatica di trapianto di fegato nell'uomo (Veroli et al, 1992).

Il sito responsabile di tale componente extraepatica nel metabolismo del PPF non è ancora stato determinato con precisione, anche se studi sia in vitro che in vivo hanno identificato in polmone e rene due possibili organi coinvolti (Kanto and Gepts, 1989; Veroli et al, 1992; Matot et al, 1993; Le Guellec et al, 1995; Raouf et al, 1996; Kuipers et al. 1999; Dawidowicz et al, 2000; Takizawa et al, 2004a; Murayama et al, 2005).

Studi più recenti confermano il ruolo rilevante dei reni nella clearance extraepatica del PPF, mentre il polmone ed il cervello non sembrano essere altrettanto coinvolti (He et al, 2000; Hiraoka et al, 2005; Takizawa et al, 2005a, 2005b; Al-Jahdari et al, 2006; Chen et al, 2006; Takata et al, 2008).

Nonostante il PPF abbia un'emivita di eliminazione relativamente prolungata nell'uomo, nel cane e nel gatto (Reid e Nolan, 1993; Zoran et al, 1993; Smith e White, 1998b), i tempi di recupero dopo singolo bolo risultano essere brevi. In modo analogo, anche a seguito di infusioni prolungate di PPF non si sono osservate influenze marcatamente negative sul tempo di risveglio nell'uomo (Smith e White, 1998b). Secondo quanto riportato da Hughes e colleghi (1992), l'emivita di eliminazione è un parametro con capacità di predizione dei tempi di risveglio piuttosto scarsa, mentre l'emivita sensibile al contesto, una misura del tempo necessario al farmaco per ridurre la propria concentrazione nel compartimento centrale del 50% dopo infusione continua, è un indice più affidabile. Nell'uomo, tuttavia, dati ottenuti dagli stessi autori da simulazioni mostrano deviazioni solo lievi di tale emivita per il PPF per infusioni della durata compresa tra 0 e 9 ore, a differenza di altri farmaci anestetici ed analgesici, quali pentobarbitale e fentanyl in cui il significato dell'emivita sensibile al contesto si fa più marcato. La PK del PPF, come approfondito più avanti nel testo, rimane relativamente poco influenzata da patologie epatiche e renali (Servin et al, 1990; Kirvela et al, 1992; Nathan et al, 1993; De Gasperi et al, 1996).

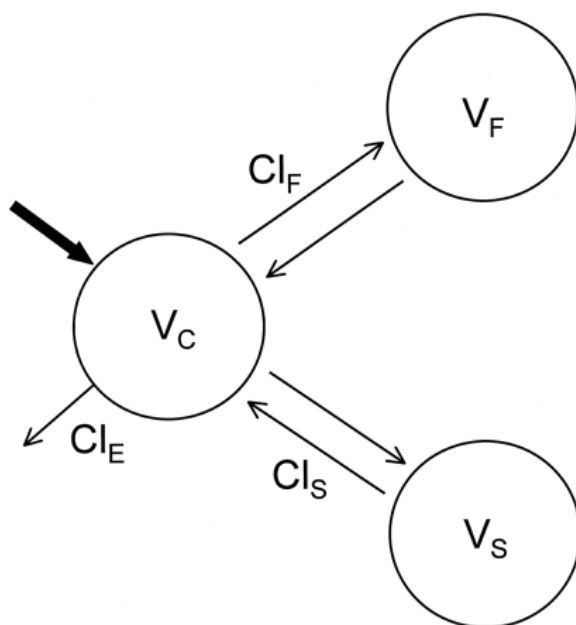
Riassumendo, una rapida redistribuzione, una clearance metabolica efficiente, con un'emivita sensibile al contesto piuttosto breve indipendentemente dalla durata dell'infusione, nonché minimi effetti associati a disordini epatici o renali sui parametri di PK, fanno del PPF l'agente anestetico di prima scelta nell'ambito della TIVA. Tali considerazioni, se pur appropriate e ormai avvalorate da ampia letteratura nella specie umana, devono essere approfondite e sottoposte a severa critica per quanto riguarda, invece, i pazienti felini.

Di seguito saranno prese in esame e discusse le principali caratteristiche farmacocinetiche e metaboliche del PPF descritte in letteratura negli ultimi vent'anni, nelle diverse specie di interesse veterinario, con particolare riguardo per la specie felina.

1.1.3. Il modello farmacocinetico

Nello studio di un modello farmacocinetico il piano di raccolta dei campioni ematici e, in particolare, il momento di prelievo del primo campione possono risultare di

Figura 2 Modello farmacocinetico mammifero a tre compartimenti, raffigurante la relazione multiesponenziale tra concentrazione plasmatica di farmaco e tempo: $C_p(t) = Pe^{-\pi t} + Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t}$. V_c = Volume di distribuzione centrale, V_F = Volume di distribuzione ad equilibrio veloce e Cl_F = Clearance intercompartimentale veloce, V_S = Volume di distribuzione ad equilibrio lento, Cl_S = Clearance intercompartimentale lenta, Cl_E = Clearance di eliminazione. Tratto da Krejcie e Adam, 1999.



determinante influenza nella stima del compartimento centrale (Chiou, 1980; Coetzee et al, 1995).

Una delle principali assunzioni nei modelli compartimentali convenzionali è il mescolamento istantaneo e completo tra sistema venoso e arterioso. Tali modelli non hanno una capacità accurata di descrivere la distribuzione iniziale e il passaggio attraverso i polmoni nel primo minuto dopo l'infusione intravenosa. Questo è un importante difetto, soprattutto per anestetici con rapido onset d'azione, poiché lo stesso può verificarsi prima che il mescolamento sia completo (Kuipers et al, 1999a). Al fine di individuare una possibile cinetica tricompartmentale e di studiare correttamente la terza fase della cinetica, di lenta distribuzione dal compartimento a bassa perfusione, è necessario un piano di raccolta dei campioni di sangue che si estenda il più possibile nel tempo; la mancanza di prelievi oltre le 12 ore, generalmente porta allo sviluppo di modelli a due sole funzioni esponenziali.

Nell'uomo studi che prevedessero un adeguato periodo di campionamento ematico (tra le 12 e le 24 ore) dopo somministrazione endovenosa, hanno messo in evidenza una migliore descrizione dell'andamento farmacocinetico attraverso un modello a funzione tri-esponenziale. Studi con campionamento di durata inferiore hanno, tuttavia, prodotto dati più accuratamente descritti da due sole fasi esponenziali (Kanto e Gepts, 1989; Cockshott et al, 1987; Cockshott et al, 1992). In alcuni individui, pur essendo il periodo di campionamento di durata sufficiente (>12 ore), è stato possibile determinare due sole fasi esponenziali (Kanto e Gepts, 1989; Sebel e Lowdon, 1989).

Nella capra l'andamento delle concentrazioni plasmatiche di PPF è delineato bene da un declino bi-esponenziale (Reid et al, 1993). In questa specie (Tabella 1) l'emivita di eliminazione è breve (15,5 min), il volume di distribuzione allo stato stazionario piuttosto grande (2,56 L/Kg) e la clearance rapida ($275 \text{ ml min}^{-1}\text{Kg}^{-1}$). Il fatto che nello studio in questione, non vi fossero quantità di PPF misurabili nel sangue di alcun animale, dopo 120 minuti, indica che un declino bi-esponenziale sia appropriato in questa specie; non si può, tuttavia escludere che una dose più consistente di quella utilizzata nel lavoro avrebbe potuto mettere in evidenza una terza fase di lento declino (Reid et al, 1993).

In un lavoro del 1993 Reid e Nolan osservarono, in cani premedicati con acepromazina, un simile declino bifasico, ma essi indicarono come possibili ragioni di tali risultati, l'impiego di una bassa dose di induzione ed un periodo di misurazione delle concentrazioni plasmatiche di sole 3 ore. Zoran e colleghi (1993), in un lavoro in cui venivano comparati i dati di PK di cani di razze miste e di levrieri, descrissero un modello a due compartimenti in tutti gli animali studiati.

1.1.4. Legame proteico

In generale, l'effetto farmacologico di una molecola è riflesso della sua concentrazione in circolo in forma non legata alle proteine; questo perché solo il farmaco non legato è capace di passare attraverso le membrane e raggiungere, in ultima analisi, i siti effettori nei diversi tessuti (Du Souich, 1993). Il legame plasmatico, pertanto, è un'importante variabile del volume di distribuzione e della clearance del farmaco (Wilkinson e Shand, 1975). Modificazioni di tale legame possono alterare tanto gli effetti farmacologici (PD) che il comportamento farmacocinetico (PK) e ciò può avvenire a seguito di interazioni di spiazzamento competitivo con altri farmaci o sostanze endogene, oppure per diminuzione delle proteine plasmatiche associata a determinate patologie, quali insufficienza epatica o renale (Hiraoka et al, 2004). Allo stesso modo, determinate procedure, quale ad esempio il *bypass* cardiopolmonare, sono capaci di alterare il legame proteico (Miller et al, 1997; Takizawa et al, 2006).

Il legame alle proteine plasmatiche da parte del PPF è molto elevato (96-98%) in tutte le specie (Cockshott et al, 1992). Esso lega principalmente l'albumina (95%) e il legame alla α 1-glicoproteina acida è, invece, relativamente debole. Come per tutti gli anestetici ad elevato legame proteico, pertanto, una cautela particolare deve essere osservata in situazioni caratterizzate da alterata proteinemia. La percentuale di PPF in forma non legata si è dimostrata essere significativamente aumentata in pazienti critici, rispetto al controllo ed è stata osservata una relazione lineare tra i livelli di albumina ed il rapporto farmaco legato/libero (Costela et al, 1996). Non sono state evidenziate differenze nel legame proteico tra pazienti giovani ed anziani (Kirkpatrick et al, 1988).

In ambito sperimentale, la quasi totalità degli studi misura la concentrazione totale di PPF dopo estrazione da sangue intero; le concentrazioni rilevabili a livello plasmatico sono, infatti, più basse, mettendo in evidenza l'intima associazione esistente tra il farmaco e i globuli rossi (GR). Si assume, pertanto, che il PPF che si trova associato con i GR sia parte integrante del compartimento centrale e sia attivo e disponibile per essere distribuito agli altri tessuti.

Il propofol si distribuisce nel sangue animale in proporzione variabile tra componente plasmatica ed eritrocitaria. Dati ottenuti da studi *in vitro* hanno dimostrato una distribuzione uniforme del PPF nel sangue umano; in quello canino invece, è risultata prevalente la componente disciolta nel compartimento plasmatico (rapporto eritrociti/plasma 0,6), mentre nel coniglio e nel ratto il rapporto è favorevole per la componente corpuscolata del sangue (rapporto 13,7 e 3,8 rispettivamente) (Cockshott et al, 1992).

Pur essendo ampiamente legato alle proteine plasmatiche, ciò non sembra interferire con la rapida clearance e con la massiva distribuzione tissutale del propofol.

1.1.5. Distribuzione

In tutte le specie, il PPF possiede un volume molto ampio del compartimento centrale (V_1) e ancora più ampio, il volume apparente di distribuzione allo stato stazionario ($V_{d_{ss}}$); questo è in linea con quanto atteso per un farmaco altamente liposolubile quale è il PPF.

1.1.6. Eliminazione

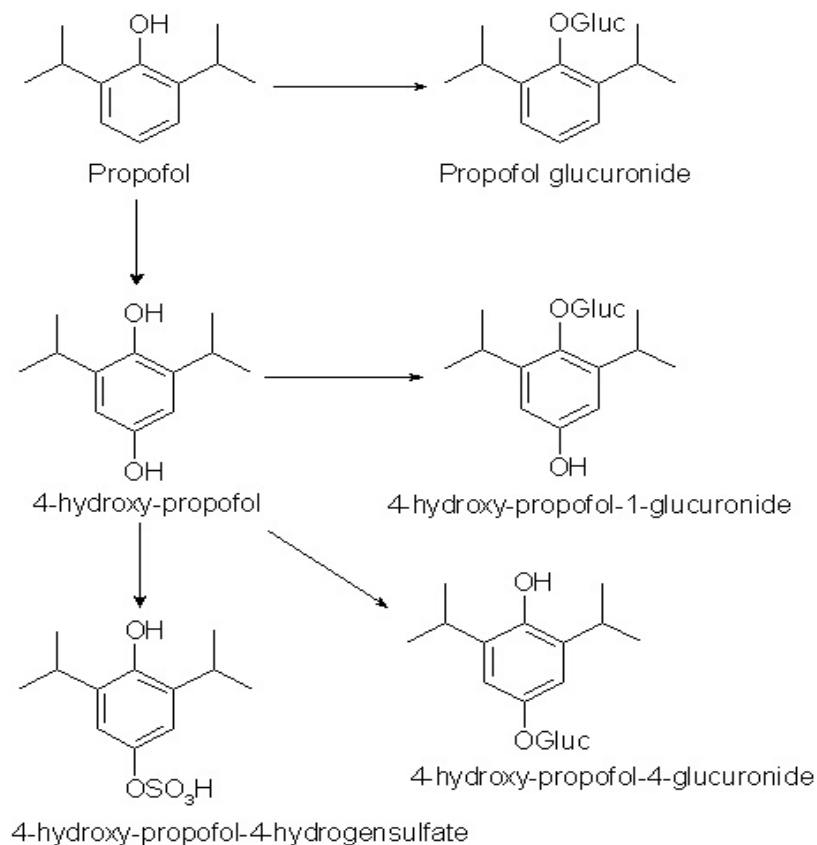
Poichè il propofol viene eliminato interamente dopo metabolismo, in forma modificata, è naturale aspettarsi che il fegato sia l'organo primariamente responsabile della clearance dell'anestetico (Cockshott, 1985; Cockshott et al, 1987; Simons et al, 1991). La clearance totale del PPF, tuttavia, può superare la perfusione epatica e, pertanto, una componente extraepatica del metabolismo ed una via di eliminazione extrarenale sono entrambe ipotesi plausibili (Kanto e Gepts, 1989; Cockshott, 1985; Sebel e Lowdon, 1989). Studi effettuati durante trapianto epatico ortotopico hanno dato nuova conferma di ciò, dimostrando la presenza di metaboliti del PPF durante la fase anepatica dell'intervento (Veroli et al, 1992; Gray et al, 1992). Hiraoka (2005) ha riportato un' estrazione del PPF significativa da parte di

fegato e reni, con indici di estrazione epatica e renale pari a 0,9 e 0,7 rispettivamente. Il valore generalmente accettato relativamente al flusso ematico epatico e renale è pari a 21 e 18 ml kg⁻¹min⁻¹ rispettivamente (Davies, 1993) e la somma delle clearance epatica e renale, calcolata da questi dati, è pari a 31 ml kg⁻¹ min⁻¹, molto prossima alla clearance totale del PPF riportata in letteratura (Bailey et al, 1996; Schuttler e Ihmsen 2000; Hiraoka et al, 2004).

1.1.7. Metabolismo

In volontari umani sani, a seguito di somministrazione di una dose sub-anestetica di ¹⁴C-propofol (dose media 0,47 mg Kg⁻¹), solamente lo 0,3% della dose è stata rinvenuta nell'urina in forma immodificata, indicando la via metabolica come meccanismo principale di eliminazione (Simons et al, 1988). Nella specie umana, il metabolismo dell'anestetico avviene principalmente per glucuronizzazione a propofol glucuronide (Figura 3) (Favetta et al, 2002).

Figura 3 Metaboliti del propofol.



Nel lavoro di Simons e colleghi con propofol marcato, il PPF in forma immodificata rappresentava il 94% del materiale radioattivo misurato nel sangue due minuti dopo l'iniezione, ma in virtù di un metabolismo molto rapido, esso era solo il 6% tra le 3 e le 8 ore post-iniezione (Simons et al, 1988).

Un progetto di studio ha indagato possibili siti extraepatici di metabolismo del PPF, utilizzando microsomi di polmone e di rene. I microsomi di rene si sono rivelati capaci di glucuronidare il PPF. Non è stata dimostrata, al contrario, capacità glucuronidativa da parte del polmone di uomo, ratto e coniglio (Le Guellec et al, 1995).

È noto tuttavia, che i polmoni siano organi farmacologicamente attivi, capaci di influenzare le concentrazioni plasmatiche di farmaci somministrati per via endovenosa. Essi possono captare, trattenere, metabolizzare e in seguito rilasciare molti farmaci (Boer, 2003). I modelli compartimentali convenzionali (Figura 2) razionalizzano e semplificano la cinetica del farmaco assumendo un istantaneo e completo mescolamento nel compartimento centrale.

Tali modelli, pertanto, non possono descrivere accuratamente l'iniziale distribuzione e transito attraverso il polmone nei primissimi minuti dopo l'iniezione endovenosa (Chiou, 1979; Chiou, 1980; Kuipers et al, 1999b; Reekers et al, 2003; Levitt e Schnider, 2005).

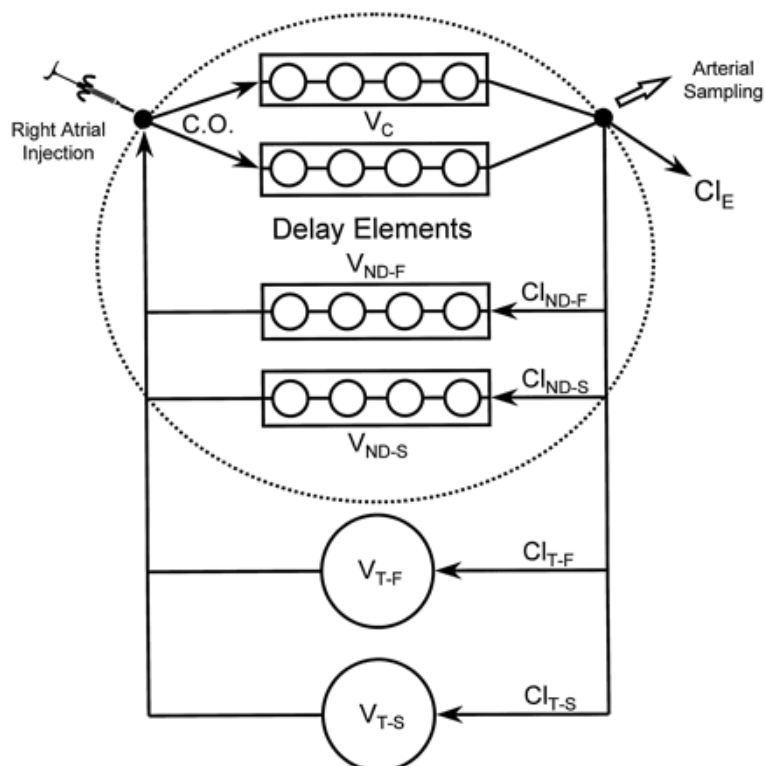
Modelli che prendano in considerazione il ricircolo (Figura 4) sono sicuramente più precisi nel descrivere il primo periodo di rimescolamento; essi rappresentano degli intermediari tra i modelli compartimentali e quelli fisiologici. I modelli con ricircolo sono in grado di fornire una struttura concettuale semplice per l'importante relazione tra la gittata cardiaca, la velocità di iniezione in bolo e le concentrazioni di farmaco iniziali, che mancano nei modelli compartimentali (Reekers et al, 2003).

Studi nel ratto hanno indicato che il polmone giocherebbe un ruolo importante nella formazione di coniugati solfati e glucuronidi dei composti fenolici (Cassidy e Houston, 1984). L'elevata clearance corporea totale nei ratti potrebbe indicare un coinvolgimento coniugativo da parte del polmone nella clearance del propofol (Cockshott et al, 1992; Simons et al, 1991).

Poiché il polmone riceve la totalità della gittata cardiaca (CO), anche un basso indice di estrazione può risultare in una clearance significativa. Successivamente, il farmaco

trattenuto dal polmone può ritornare al circolo sistemico in proporzione e con una velocità non ancora determinate, o venire metabolizzato dal tessuto polmonare stesso (Matot et al, 1993).

Figura 4 Modello farmacocinetico multi compartimentale con ricircolo. VT-F. e VT-S. sono i compartimenti a distribuzione veloce e lenta di un modello tri-compartimentale (Figura 2) mentre i compartimenti serbatoio in serie (delay elements) inclusi nella circonferenza rappresentano le componenti del suo V_c espanse. Tratta da Krejcie, 1996.



In pecora, gatto e ratto, è riportata una marcata eliminazione di primo passaggio a livello polmonare (Matot et al, 1993; Matot et al, 1994; Dutta e Ebling, 1998; Kuipers et al, 1999). Se nel gatto il ruolo dei polmoni nel metabolismo del PPF è piuttosto chiaro, rimane argomento controverso e dibattuto nell'uomo (Dawidowicz et al, 2000; He et al, 2000). Il gruppo di Dawidowicz e colleghi ha misurato concentrazioni di PPF più alte nel sangue in atrio destro, rispetto a quello prelevato dall'arteria radiale, ed ha spiegato questi risultati con la presenza di un metabolismo ossidativo polmonare del PPF durante l'infusione. L'indice di estrazione polmonare calcolato è pari a 0,3-0,4 ed essi hanno dimostrato che i polmoni umani rivestono un ruolo nell'eliminazione del PPF, trasformandolo in 2,6-diisopropyl-1,4-chinolo.

Al contrario, He e colleghi (2000) hanno riportato l'assenza di estrazione polmonare allo pseudo-stato stazionario. In accordo con quest'ultimo lavoro, quello *in vitro* di Le Guellec e colleghi (1995), che hanno concluso che in microsomi polmonari umani non avviene glucuronidazione del propofol. Più recentemente, nel 2005, Hiraoka ha confermato i risultati di He et al, dimostrando che i polmoni non contribuiscono, nell'uomo, alla clearance extraepatica del propofol. Nel modello umano cinetico e dinamico con ricircolo del PPF sviluppato da Upton e Ludbrook (2005), la migliore corrispondenza è stata riscontrata assumendo un indice di estrazione polmonare del 10% e renale del 30%.

Isoforme dell'Uridina difosfato glucuroniltransferasi (UGT) sono espresse a livello renale e cerebrale (Zhang et al, 2001). Recenti studi hanno dimostrato un tasso di glucuronidazione del PPF più alto nel rene che nel fegato umano (Hiraoka et al, 2005).

L'*uptake* e la disponibilità dei farmaci altamente liposolubili come il PPF, all'interno degli organi maggiormente perfusi sono ritenuti flusso-dipendenti, e variazioni del flusso ematico nell'organo, indotte dall'anestetico stesso possono alterare la sua distribuzione.

Dopo rapida somministrazione endovenosa di propofol vi è una marcata differenza tra la concentrazione di farmaco nel sangue arterioso e nel cervello. Sembra che l'effetto del propofol sul flusso ematico cerebrale alteri la velocità di eluizione dal cervello, riducendola (Ludbrook et al, 1996). Zhang (2001) ha ipotizzato che il cervello possa essere una importante via di metabolizzazione extraepatica, sulla base della presenza di isoforme di UGT a livello cerebrale. Ciò è in disaccordo con quanto riportato da Hiraoka e colleghi (2005), secondo cui non vi sono differenze tra le concentrazioni di propofol nel sangue arterioso e a livello di bulbo della vena giugulare interna.

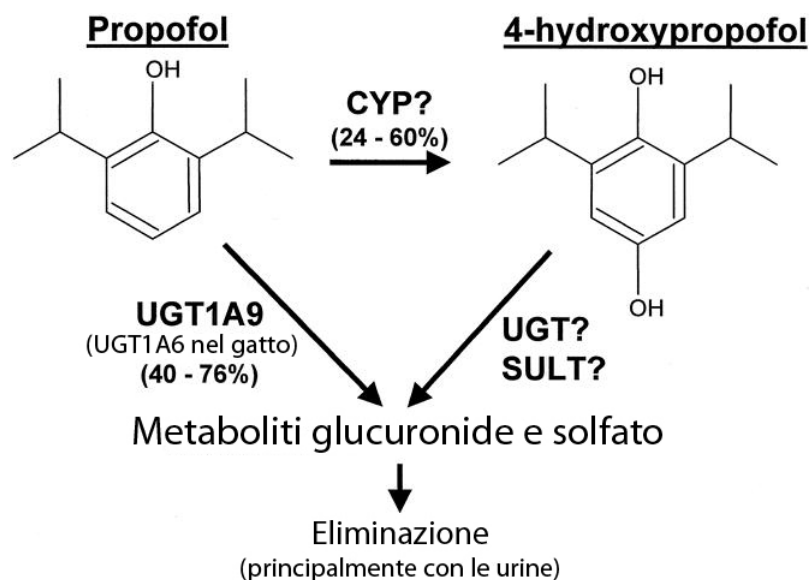
1.1.8. Peculiarità metaboliche nella specie felina

È nota la caratteristica inefficienza del gatto domestico e di altri animali filogeneticamente affini, rispetto ad altre specie, di metabolizzare determinati farmaci; in particolare, tale mancanza riguarda la scarsa capacità di formare composti

glucuronidi di xenobiotici fenolici planari (Robinson e Williams 1958; Yeh et al, 1971; Davis e Westfall 1972; Miller et al, 1973; Savides et al, 1984; Wilcke, 1984; Court e Greenblatt 2000; Lascelles et al, 2007).

L'enzima glucuronyl transferasi generalmente responsabile della glucuronidazione di semplici composti fenolici planari è l'UGT1A6 (Figura 5). Il gene preposto alla produzione dell'enzima è stato riconosciuto come uno pseudo gene nel gatto e, a causa di tale anomalia genetica nell'esone UGT1A6, la proteina da esso prodotta è generalmente scarsa o non funzionale (Court e Greenblatt, 2000).

Figura 5 Principali vie di biotrasformazione del propofol. (Tratto e modificato da Court et al, 2001).



Una percentuale significativa dell'anestetico, nell'uomo, viene idrossilata a 4-hydroxypropofol attraverso diversi citocromi P450 (CYP) e, successivamente, glucuronidata sul gruppo idrossilico in posizione C1 o C4, o solfatata sull'idrossile C4 da una sulfotransferasi (Figure 3 e 5). Il citocromo maggiormente coinvolto in tale processo, nell'uomo, è il P450 2B6, ma questo specifico citocromo non è stato identificato nel gatto. Nonostante le forme coniugate del PPF, glucuronide e solfato, sembrano essere farmacodinamicamente inattive, il 4-hydroxypropofol è riportato avere approssimativamente un terzo dell'effetto ipnotico del PPF (Court et al, 2001). Nel gatto quindi, i composti fenolici a basso peso molecolare vengono glucuronidati più lentamente, risultando in un prolungamento della loro emivita, oppure sono

metabolizzati per vie alternative, quale la via rapidamente saturabile della solforazione; il farmaco d'origine tende quindi ad accumularsi ed il gatto risulta particolarmente sensibile agli effetti avversi di molti farmaci e tossine, normalmente glucuronidati prima dell'eliminazione (Court e Greenblatt, 1997).

È interessante sottolineare che anche altre specie presentano particolarità nella glucuronidazione del propofol. I microsomi epatici umani possiedono una capacità glucuronidativa superiore anche a quelli del coniglio, seguiti da quelli di ratto (Le Guellec et al, 1995). Questi dati sono confermati da studi *in vivo* condotti nel ratto, i quali hanno dimostrato una predominante escrezione urinaria di coniugati solfati (Le Guellec et al, 1995).

1.1.9. Clearance

La clearance del propofol, nell'uomo, è circa dieci volte più veloce di quella del tiopentale, in virtù della più elevata clearance metabolica (Shafer, 1993). La clearance corporea totale è rapida nell'uomo ($32,9 \text{ ml min}^{-1}\text{kg}^{-1}$), nel cane ($34,4-114,8 \text{ ml min}^{-1}\text{kg}^{-1}$), nel ratto ($72 \text{ ml min}^{-1}\text{kg}^{-1}$) e maiale ($76 \text{ ml min}^{-1}\text{kg}^{-1}$) ed ancor più nel coniglio ($340 \text{ ml min}^{-1}\text{kg}^{-1}$) (Cockshott et al, 1987; Cockshott et al, 1992).

Nel gatto la clearance corporea totale sembra risentire della scarsa capacità di glucuronidazione epatica ed è piuttosto bassa ($17,2 \text{ ml min}^{-1}\text{kg}^{-1}$) (Cleale et al, 2009). Il flusso ematico del fegato, nel gatto, è riportato essere tra $26,8$ e $34,3 \text{ ml min}^{-1}\text{kg}^{-1}$, quasi due volte la clearance totale (Larsen, 1963a; Larsen, 1963b). In molte specie l'indice di estrazione epatico del propofol è circa pari a 1, la clearance di eliminazione, cioè, è flusso epatico dipendente e varia con il variare del CO e del flusso epatico (Hiraoka et al, 2004). Nel gatto, invece, la clearance sembra essere abbastanza bassa rispetto al flusso epatico, da suggerire che in questa specie l'indice di estrazione sia sostanzialmente inferiore a 1. Ciò implica che la clearance di eliminazione sarà poco influenzata dalle variazioni di CO e del flusso epatico.

1.1.10. Escrezione

L'88% del propofol è escreto come glucuronide nell'urina, mentre nelle feci è meno del 2%. Una quota inferiore allo 0,3% del PPF è escreta immodificata. La parte restante consiste dei coniugati solfati in posizione 1 e 4 (Glen e Hunter, 1984; Sebel e Lowdon, 1989).

Simons et al (1991) hanno riscontrato una marcata variabilità interspecie riguardo la clearance dell'anestetico e riguardo il profilo dei metaboliti; nel ratto e nel cane è stata riscontrata l'escrezione biliare del PPF e di conseguenza il verificarsi di ricircolo entero-epatico e aumentata formazione di coniugati solfati. Escrezione biliare non è stata riscontrata nel coniglio.

1.1.11. Caratteristiche farmacodinamiche

La rapidità del manifestarsi degli effetti clinici di un agente ipnotico (*onset*) è determinata dalle sue caratteristiche fisico-chimiche. Un'ampia frazione diffusibile (frazione di farmaco non ionizzata), elevata liposolubilità e minima barriera lipidica nel sistema nervoso centrale (SNC), sono fondamentali affinché si verifichi un rapido passaggio della barriera emato-encefalica e la produzione dell'effetto ipnotico (Kanto e Gepts, 1989). Le caratteristiche farmacocinetiche del propofol, in particolare la sua rapida e massiccia redistribuzione, indicano che esso ha le caratteristiche appropriate per attraversare velocemente qualsiasi membrana cellulare, compresi i capillari del SNC. In studi farmacodinamici è stata, tuttavia, osservata un'isteresi nel rapporto concentrazione-effetto. Le concentrazioni di PPF misurate all'instaurarsi della perdita di coscienza erano sempre più alte rispetto a quelle allo stato stazionario, necessarie per mantenere la depressione del SNC, ed esse erano direttamente proporzionali alla velocità di iniezione. Qualsiasi siano i meccanismi fisiologici o fisico-chimici alla base dell'isteresi (ritardata diffusione emato-encefalica, ritardato legame ai recettori o iniziale legame a siti non attivi), questi restano difficili da verificare (Kanto e Gepts, 1989). Nel modello PK/PD di Schüttler et al, del 1985, è stato incluso un compartimento effettore, con un'emivita di equilibrio emato-encefalica di circa 3 minuti, al fine di dare una possibile descrizione matematica dell'isteresi osservata.

Sono stati osservati tempi di induzione non dissimili dopo iniezione rapida o lenta, anche se per la prima si è resa necessaria una dose totale sensibilmente maggiore con conseguenti effetti collaterali più marcati. La percentuale di successo dell'induzione, d'altra parte, scendeva per iniezioni protratte per più di due minuti, e questo perché, con tutta probabilità, ampia parte del farmaco aveva avuto il tempo di distribuirsi ai

tessuti diversi dal SNC, prima che fosse raggiunta la concentrazione efficace (Ludbrook e Upton, 1997).

È necessario un'elevato gradiente di concentrazione di PPF per produrre una rapida induzione dell'anestesia. Poiché, tuttavia, elevate concentrazioni plasmatiche di PPF possono determinare effetti cardiovascolari indesiderati, è preferibile l'impiego di una velocità di iniezione più bassa, a costo di una quantità totale di farmaco anche maggiore (Kanto e Gepts, 1989; Sebel e Lowdon, 1989).

Gli effetti cardiovascolari del propofol consistono in una diminuzione transitoria della pressione arteriosa (ABP), dovuta principalmente ad un calo delle resistenze vascolari periferiche (Goodchild e Serrao, 1989; Pagel e Warltier, 1993), diminuzione del tono simpatico e depressione miocardica (Coetzee et al, 1989). L'ipotensione non è, generalmente, associata a tachicardia riflessa e, al contrario, una diminuzione della frequenza cardiaca è più frequentemente osservata. Si ritiene che il meccanismo alla base sia l'azzeramento del riflesso barocettore, causato dall'agente (Cummings et al, 1984; Ebert et al, 1992; Sellgren et al, 1994).

Nonostante sia segnalata l'insorgenza di aritmie associate all'uso di PPF nell'uomo, questo non sembra essere un riscontro comune nel cane e nel gatto (Watkins et al, 1987; Morgan e Legge, 1989; Smith et al, 1993; Quandt et al, 1998).

Gli effetti indesiderati più comunemente citati nella letteratura riguardante la somministrazione endovenosa di PPF sono la depressione respiratoria e l'apnea (Morgan e Legge, 1989; Ilkiw et al, 1992; Watney e Pablo, 1992; Muir e Gadawski, 1998; Quandt et al, 1998). Gli effetti collaterali possono, tuttavia, essere ridotti al minimo, iniettando il farmaco lentamente, ad effetto (Watkins et al, 1987; Weaver e Raptopoulos, 1990; Quandt et al, 1998).

Nel gatto, Yang e colleghi hanno scoperto che le aree di integrazione neuronale dei meccanismi vasomotori, responsabili dell'ipotensione, su cui agisce il PPF, sono situati all'interno del midollo dorso mediale e ventromediale (Yang et al, 1997).

Nel 2001 Nieuwenhuijs e colleghi hanno confermato che concentrazioni sedative di PPF hanno un importante effetto sul controllo respiratorio, che si manifesta con diminuita risposta all'ipercapnia. Essi hanno attribuito la depressione esclusivamente ad un effetto nel circuito del chemoriflesso centrale, sui chemorecettori. In contrasto con quanto osservato con basse dosi di anestetici inalatori, il circuito del

chemoriflesso periferico, se stimolato dall'anidride carbonica, non è, invece, toccato dall'azione del PPF (Nieuwenhuijs et al, 2001).

Tuttavia, alte dosi di PPF hanno mostrato la capacità di deprimere la funzionalità dei corpi carotidei nel gatto e nel coniglio (Ponte e Sadler, 1989), indicando che, se pur mediata principalmente a livello centrale a basse dosi, la depressione respiratoria dipende anche da un coinvolgimento dei corpi carotidei (periferici), ad alte dosi.

Sebbene le fasi di induzione e risveglio con PPF siano state descritte, negli animali, come gradualmente e prive di fenomeni eccitatori (Watkins et al, 1987; Morgan e Legge, 1989; Weaver e Raptopoulos, 1990), sono riportati alcuni effetti indesiderati: segni di dolore all'iniezione, vomito durante il risveglio, eccitazione, pedalamo, tremori muscolari ed opistotono; l'uso di tranquillanti, sedativi ed oppioidi in premedicazione riduce, tuttavia, l'incidenza di tali fenomeni (Davies, 1991; Cullen e Reynoldson, 1993; Smith, et al, 1993; Smedile et al, 1996).

1.2. LA TIVA: ANESTESIA TOTALMENTE INTRAVENOSA

1.2.1. Cenni storici

Nel 1628 William Harvey pubblica il libro “Exercitatio Anatomica de Motu Cordis et Sanguinis in Animalibus”, in cui descrive per la prima volta la circolazione sanguigna. Dopo tale scoperta Christopher Wren e Robert Boyle, amici di Harvey, provarono ad iniettare con una rudimentale siringa dell’oppio in vena a dei cani, descrivendo come questi cadessero in uno stato di profondo sonno. Nasce così l’anestesia endovenosa.

È con la scoperta del tiopentale sodico, nel 1934, che si apre però una nuova era nell’anestesia endovenosa moderna.

Nonostante nella pratica veterinaria il tiopentale sia stato utilizzato come unico agente anestetico per un tempo anche più lungo che in medicina umana, il suo ridotto volume di distribuzione e la lunga emivita di eliminazione di diverse ore, porta rapidamente ad accumulo nei tessuti, rendendolo inadatto all’uso in TIVA, se non per brevissime procedure chirurgiche (Morgan, 1983). Il rapido *onset* del farmaco, di circa 30 secondi, tuttavia, lo rende ottimale per l’induzione dell’anestesia prima del mantenimento con un agente volatile ed è tuttora ampiamente utilizzato con questo scopo in anestesia veterinaria (Branson, 2007).

Il concetto di anestesia bilanciata nacque nel 1926 con l’introduzione della premedicazione prima dell’anestesia. Nel 1952, Gray e Rees suddivisero tre componenti dell’anestesia, la cosiddetta “Triade dell’anestesia”: analgesia, miorilassamento e ipnosi, ognuna delle quali veniva ottenuta utilizzando più farmaci diversi. Nel 1957, Woodbridge aggiunse come quarta componente l’abolizione della risposta autonoma (Beths, 2008).

Nonostante questa nuova prospettiva abbia dato una forte spinta allo sviluppo dell’anestesia endovenosa, la mancanza di farmaci con un adeguato profilo farmacocinetico e farmacodinamico e di tecniche di somministrazione perfezionate, ha fatto sì che per anni l’anestesia inalatoria rimanesse lo standard di prima scelta.

Un importante impulso al progresso della TIVA è arrivato dalla consapevolezza dei possibili danni alla salute derivanti dall’esposizione cronica agli alogenati da parte del personale medico. Dai primi anni ’70 ad oggi, pertanto, le nuove tecnologie

disponibili e la messa a punto di nuovi farmaci ha portato ad un rapido sviluppo della TIVA, come possibile alternativa agli anestetici alogenati (Morgan, 1983; Irwin et al, 2009; Smith, 2010).

Lo sviluppo di pompe volumetriche e di sistemi di infusione tecnologicamente sempre più avanzati hanno aperto la strada verso l'infusione basata su modelli farmacocinetici (Egan, 1996; Egan 2003).

Il progresso in ambito farmacologico è andato di pari passo, con la scoperta di farmaci dal profilo PK e PD più appropriato all'uso in TIVA, quali la ketamina (1963), alfaxolone/alfadolone (1972) ed etomidate (1972). Nessuno di questi, tuttavia, si è rivelato completamente soddisfacente. La ketamina, pur offrendo i vantaggi di essere analgesica e di accumularsi relativamente poco, presenta alcuni effetti indesiderati di tipo disforizzante e psicotropo soprattutto negli adulti. La combinazione alfaxolone e alfadolone (Althesin; Saffan), pur dimostrando un ottimale profilo farmacocinetico, venne ritirata dal mercato a causa di importanti reazioni di tipo anafilattico. L'etomidate divenne l'anestetico di prima scelta nei pazienti critici, ideale anche in infusione continua, in virtù delle ottime caratteristiche di stabilità emodinamica, e alla rapida clearance (Davis e Cook, 1986). È noto, tuttavia, che esso causi una significativa e prolungata inibizione della risposta fisiologica allo stress a seguito di infusione, e questo ne ha limitato l'uso come agente di mantenimento (Davis and Cook, 1986; Branson, 2007).

Il propofol, introdotto nel 1986, è attualmente il farmaco commercializzato con le migliori caratteristiche per l'uso in TIVA, anche se, sotto la forte spinta che l'interesse per questa tecnica continua ad dare, nuovi ipnotici dalle caratteristiche di PK/PD sempre migliori, sono in fase di studio. Questi includono gli agonisti dei recettori per le benzodiazepine CNS7056 e JM-1232 (-), i derivati dell'etomidate methoxycarbonyl-etomidate e il carboetomidate, gli analoghi del propofol PF0713 e fospropofol, e il THRX-918661/AZD3043 (Sneyd e Rigby-Jones, 2010).

Il propofol possiede molte delle proprietà ricercate nell'anestetico endovenoso ideale, come la rapida insorgenza dell'effetto, breve durata d'azione, elevata clearance, minima tendenza all'accumulo e minimi effetti collaterali (Morgan, 1983; Miller, 1994).

La scoperta del PPF, la conoscenza delle sue proprietà farmacocinetiche, insieme allo sviluppo dei materiali e delle tecniche per l'infusione e al progresso informatico, hanno condotto alla più moderna concezione della TIVA, l'infusione controllata a *target* (TCI), entrata ormai a far parte dell'attività quotidiana in anestesia umana (Padfield, 2000a).

Nel 2001, Beths e colleghi hanno, per la prima volta validato un sistema TCI con PPF nel cane. Il sistema prototipo è stato sviluppato utilizzando un set di parametri che descrivevano la farmacocinetica del propofol nel cane. Utilizzando lo schema di somministrazione endovenosa del propofol nel cane, descritto da Nolan e Reid (1993) e i parametri di farmacocinetica ricavati dalla letteratura (Simons et al, 1991; Zoran et al, 1993), Beths e colleghi hanno realizzato una simulazione al computer con il software PK-SIM (Specialised Data Systems, Jenkintown, PA, USA) ed hanno, quindi, comparato i profili per il propofol previsti dal programma con quelli misurati nel sangue venoso. Nessuno dei modelli farmacocinetici pubblicati per il propofol nel cane si è rivelato in grado di fornire un'accurata predizione delle concentrazioni plasmatiche del farmaco. In seguito ad alcuni aggiustamenti empirici, tuttavia, utilizzando la metodica descritta da Varvel et al. (1992) per valutare le prestazioni di un sistema TCI, il modello sviluppato da Beths e colleghi (2001) si è dimostrato soddisfacente.

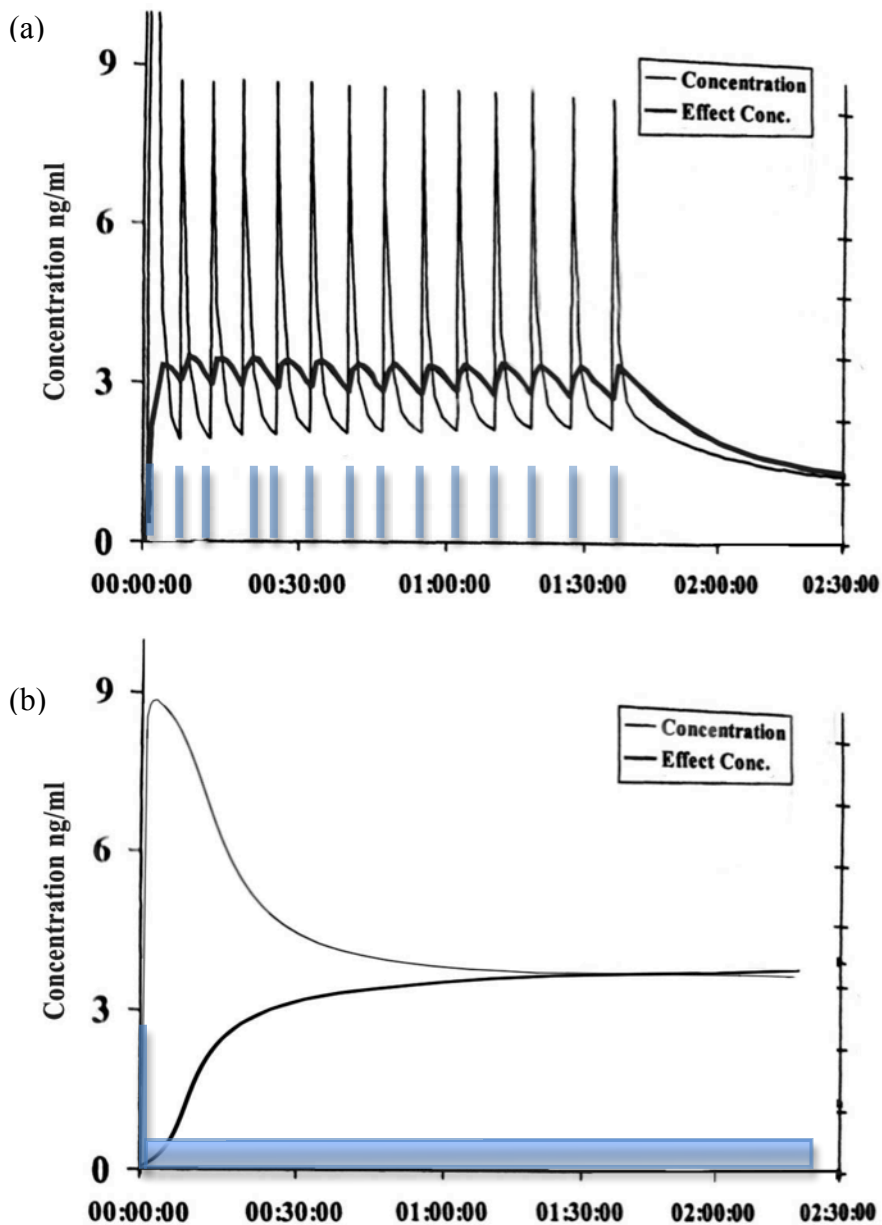
Vi è ancora molto da approfondire e molto lavoro da svolgere al fine di sviluppare, negli animali da compagnia, sistemi di TCI in grado di fornire schemi di infusione ottimali.

1.2.2. Modalità e tecniche di somministrazione in TIVA

Un agente anestetico endovenoso può essere utilizzato per il mantenimento dell'anestesia fondamentalmente con due modalità (Figura 6): per boli ripetuti o in infusione continua (CRI) (Smith and White, 1998a). Utilizzare una somministrazione per boli multipli è forse più semplice e non richiede particolari attrezzature, ma il risultato, in particolare se la procedura non è molto breve, è caratterizzato da una grossa quantità totale di farmaco impiegata, un maggiore accumulo e, di

conseguenza, un risveglio prolungato e di scarsa qualità (Miller, 1994; Smith and

Figura 6 Somministrazione di fentanyl per boli ripetuti (a) o in infusione continua dopo bolo di carico (b). Il paziente risponde al di sotto dei 3 ng/ml di concentrazione al sito effettore.



White, 1998c; Padfield 2000b).

La CRI permette di eliminare i picchi plasmatici di farmaco che caratterizzano la tecnica per boli, risultando in una anestesia più bilanciata e abbassando la dose totale di farmaco somministrato (Gepts, 1998).

L'utilizzo dell'infusione costante porta, tuttavia, ad un graduale aumento della concentrazione plasmatica e degli effetti collaterali. (Smith e White, 1998c).

Un'alternativa al mantenimento costante della velocità di infusione, è fissare e mantenere costante la concentrazione plasmatica dell'anestetico (*target*), variando gradualmente la velocità di infusione. Su questo filone, sono stati sviluppati i cosiddetti *stepped infusion schemes* (regimi di infusione a intervalli) (Kruger-Thiemer, 1968; Wagner, 1974; Miller, 1994; Korman et al, 1998).

L'idea di base della *stepped infusion* (SI) è quella di utilizzare una rapida infusione iniziale per riempire il volume di distribuzione del compartimento centrale, seguita da uno schema infusionale di mantenimento, derivato dalla concentrazione plasmatica ricercata e dalla velocità di clearance del farmaco (Wagner, 1974). Il sistema, descritto in medicina umana e veterinaria per il PPF ed altri agenti, viene generalmente applicato in ambito clinico in una forma semplificata, con il minor numero possibile di *step*. Rimane, tuttavia, un sistema molto rigido e difficilmente adattabile alla situazione clinica (Gepts, 1998; Smith and White, 1998c).

Nel 1968, Kruger-Thiemer propone uno schema di infusione, conosciuto con l'acronimo BET, per Bolo (dose di carico), Eliminazione (velocità di infusione allo stato stazionario, regolata secondo la velocità di eliminazione del farmaco) e Trasferimento (velocità ridotta esponenzialmente in modo da assecondare la ridistribuzione del farmaco dai siti periferici al compartimento centrale)

Nel 1981, Schwilden ha descritto l'applicazione clinica dello schema BET, interfacciando un microcomputer ad una pompa infusionale.

Successivamente, sono state sviluppate pompe più sofisticate, computers e algoritmi per il controllo della velocità di infusione e finalmente, nel 1988 il gruppo di studio di Schuttler ha descritto il primo sistema prototipo di TCI. Otto anni più tardi, nel 1996, il software infusionale viene approvato per l'uso in Europa e la ICI lancia il primo sistema TCI commerciale per uso con PPF nell'uomo (Milne and Kenny, 1998b; Glen, 2003). Il sistema consisteva di una pompa per siringhe Graseby 3400 collegata ad un computer esterno che successivamente è stato completamente integrato nella pompa. Il software per la somministrazione di PPF nell'uomo (Diprifusor; Zeneca Ltd) contiene un modello PK, un set di variabili PK proprie del PPF ed un algoritmo di infusione.

1.2.3. TCI: Infusione Controllata a Target

Nei sistemi TCI, i parametri di PK di un farmaco per una particolare specie sono incorporati in un software di controllo dell'infusione. Una serie di algoritmi di comando, caricati in un computer esterno o in un microprocessore incorporato nella pompa infusoriale stessa, controlla la quantità di farmaco somministrata affinché la concentrazione prescelta (detta *target*) venga raggiunta rapidamente e quindi mantenuta. Se il target rimane costante, la velocità di infusione scenderà nel tempo per compensare le caratteristiche di accumulo del farmaco (Egan, 2003):

- **Infusione convenzionale:** Velocità di infusione costante;
La concentrazione aumenta gradualmente.
- **TCI:** Concentrazione plasmatica costante;
Velocità di infusione diminuisce gradualmente.

Se la concentrazione obiettivo impostata viene modificata dall'operatore, gli algoritmi di controllo assicurano che lo stato stazionario per la nuova concentrazione sia raggiunto velocemente (Glen, 2003).

Un aumento della concentrazione target comporterà l'iniezione di un bolo di carico, seguita da un'infusione con velocità esponenzialmente decrescente e che sarà superiore rispetto a quella precedente. Al contrario, a seguito di una diminuzione della concentrazione target impostata, l'infusione sarà interrotta fino a quando il nuovo obiettivo sia raggiunto e a quel punto l'algoritmo riprenderà un'infusione esponenzialmente decrescente, ad un tasso inferiore rispetto al precedente (Egan, 2003). Anche se il sistema si basa su modelli matematici molto complessi, il suo principio di base rimane quello del metodo BET, descritto da Kruger-Thiemer nel 1968 (Egan, 2003).

1.2.4. TIVA e TCI in medicina veterinaria

Con l'introduzione del PPF nella pratica veterinaria, negli anni '80, si è rinnovato l'interesse per la TIVA negli animali domestici. Nolan and Hall (1985) e Waterman

(1988) descrivono la possibilità di utilizzare il PPF come componente di un protocollo in TIVA nel cavallo e nella pecora, rispettivamente, mentre solo una decina di anni più tardi vengono pubblicati studi di farmacocinetica per il cavallo (Nolan et al, 1996) e per la pecora (Correia et al, 1996).

Pur esistendo, ad oggi, diverse pubblicazioni riguardanti il PPF in queste specie ed in altre, è nel cane che è possibile rinvenire la maggior parte degli studi farmacocinetici e farmacodinamici e per questo motivo, in questa specie, si è diffuso ampiamente l'uso del PPF in TIVA e si sono creati i presupposti per lo sviluppo di sistemi TCI.

L'impiego del PPF nel cane è per la prima volta descritto da Glen e Hunter nel 1984. L'uso del PPF in TIVA è riportato in numerose pubblicazioni dalla fine degli anni '80 ad oggi, Hall e Chambers (1987), Goodchild e Serrao (1989), Robertson et al (1992), Thurmon et al (1994), Muir e Gadawski (1998), Murrell et al (2005), solo per citarne alcuni.

La TIVA e l'uso del PPF per il mantenimento dell'anestesia nel gatto non hanno avuto altrettanto spazio e le pubblicazioni relative all'applicazione clinica della tecnica sono sporadiche. Ilkiw e Pascoe nel 2003, descrivono l'uso del PPF in CRI nel gatto, per il mantenimento dell'anestesia, con risultati soddisfacenti. Johnson e Drazenovich (2007) ne descrivono, ancora, l'utilizzo nel gatto per procedure di broncoscopia e, infine, Bley et al (2007) studiano le modificazioni degli eritrociti a seguito di infusioni ripetute di PPF nel gatto.

Di pari passo, sono stati condotti diversi studi di PK in cani sottoposti a chirurgia (Nolan e Reid, 1993), in cani di razze differenti ai fini comparativi (Zoran et al, 1993; Court et al, 1999; Hay Kraus et al, 2000) e in popolazioni di pazienti canini anziani (Reid e Nolan, 1996), o per approfondire le possibili interazioni tra farmaci (Perry et al, 1991; Nolan et al, 1993; Reid e Nolan, 1993; Hall et al, 1994; Mandsager et al, 1995).

Lo sviluppo informatico e la possibilità di interfacciare computer e apparecchiature per l'infusione, ha portato, infine, alla somministrazione controllata da computer di anestetici endovenosi.

Nel 2001, il gruppo di anestesia di Glasgow ha sviluppato e validato un sistema TCI con PPF nel cane (Beths et al, 2001). Nel 2004 un gruppo sudafricano ha utilizzato un sistema di TCI per mantenere l'anestesia con PPF in quattro cani sottoposti a

neurochirurgia. Nello studio veniva utilizzato un computer con il software “Stelpump” ed una pompa per siringhe collegati tramite cavo seriale RS-232. Essi, tuttavia, non hanno effettuato una validazione dei parametri PK utilizzati nel sistema (Joubert et al, 2004). Lo stesso anno, i medesimi parametri farmacocinetici con un sistema di infusione identico a quello di Joubert et al, sono stati validati in cani anestetizzati con enflurano, dal gruppo di Luo e colleghi (Luo et al, 2004).

Nel 2005, Musk et al hanno studiato il target ideale per indurre cani premedicati con acepromazina e morfina, utilizzando il sistema sviluppato quattro anni prima da Beths.

Il sistema TCI per il PPF sviluppato da Beths, negli ultimi anni, è stato migliorato e le sue prestazioni sono state verificate nell’utilizzo contemporaneo con farmaci coinduttori ed analgesici, al fine di renderlo meglio fruibile in ambito clinico (Musk e Flaherty, 2007; Auckburally et al, 2008; Mair et al, 2009).

Nel gatto, la TCI è stata utilizzata ai soli fini sperimentali per l’infusione di alfentanil in sei soggetti.

La mancanza di una letteratura sufficientemente esaustiva sulla PK e PD del propofol nel gatto ha, di fatto, ritardato notevolmente lo sviluppo di questa tecnologia in questa specie. Pilla et al (2010) hanno riportato l’impiego di un sistema TCI per l’induzione e il mantenimento dell’anestesia con PPF in un gatto sottoposto a chirurgia. Il sistema era lo stesso impiegato nel presente studio ed era costituito da un computer con microprocessore Intel® Atom™ Inside™, con software *Computer Control Infusion Pump* (CCIP), in ambiente Windows XP, e una pompa per siringhe Graseby 3500. L’algoritmo di infusione utilizzava un *set* di costanti PK non sottoposto a validazione (Pilla et al, 2010).

Altri studi documentano l’uso dell’infusione comandata da computer in altre specie e con farmaci differenti dal PPF: con alfentanil o detomidina nel cavallo (Daunt et al, 1993; Pascoe et al, 1993). Levison et al. (2010) hanno verificato l’efficienza di un sistema TCI per l’infusione di ketamina in sei ponies.

1.2.5. Validazione dei sistemi TCI

L'accuratezza di un sistema TCI dipende dal *set* di variabili PK utilizzate per programmare il dispositivo. Di conseguenza, il sistema deve essere convalidato prima di poter accedere liberamente all'uso nella pratica clinica.

In sintesi, durante l'infusione con un sistema di TCI, vengono raccolti dei campioni di sangue in determinati momenti prefissati e le concentrazioni *target* in corrispondenza del prelievo ematico, registrate. Successivamente, utilizzando formule matematiche, vengono confrontati i valori reali e predetti dal software in quegli specifici momenti. Dai calcoli, si derivano i valori di *bias* (deviazione) e di accuratezza del sistema. In studi sull'uomo, è stato proposto che le prestazioni di un sistema TCI possano essere considerate clinicamente accettabili con valori di *bias* inferiori o uguali a $\pm 10-20\%$ ed accuratezza tra 20 e 40% (Schüttler et al, 1988; Glass et al, 1991).

1.2.6. La TCI in ambito clinico

Le prime applicazioni cliniche della TCI, nell'uomo, hanno riguardato principalmente l'induzione e il mantenimento dell'anestesia. In seguito, il sistema è stato impiegato nella sedazione cosciente, per l'intubazione in pazienti critici o per la somministrazione di analgesici peri- e post-operatori (Barvais et al, 1996; Milne and Kenny, 1998a; Milne and Kenny, 1998b; Che net al, 2009; Péan et al, 2010; Coskun et al, 2010). I sistemi TCI sono progettati partendo da parametri farmacocinetici propri di una determinata popolazione e soffrono, per questo motivo, della variabilità inter- e intra-specifica. Il paziente pediatrico, in particolare, è stato oggetto di numerosi studi, prima che si arrivasse nel 2003 ad un sistema mirato ed efficace, denominato *Paedfusor* (Varveris e Morton, 2002; Absalom et al, 2003; Anderson, 2010).

Nonostante il PPF sia uno dei farmaci maggiormente utilizzati in TCI, ogni studio che abbia cercato di dimostrare le sue proprietà analgesiche non ha avuto risultati consistenti (Langley and Heel, 1988; Borgeat et al, 1994; Zacny et al, 1996; Cheng et al, 2008). Di conseguenza, l'uso del PPF come unico agente per la TIVA nell'uomo, non si è rivelato soddisfacente per procedure maggiori, poiché la dose richiesta al

fine di inibire la risposta adrenergica allo stimolo chirurgico può causare depressione cardiaca e respiratoria (Smith et al, 1994a). Potenti oppioidi come fentanyl, alfentanyl o remifentanyl sono, pertanto, comunemente infusi in associazione al PPF per migliorare la soppressione dei riflessi (Smith and White, 1998d).

SCOPO DEL LAVORO

Il fine di questo progetto di ricerca è stato quello di sviluppare e validare un sistema di infusione TCI per il propofol nel gatto domestico.

In questa specie, le conoscenze relative al comportamento del propofol nell'ambito dell'infusione continua sono ancora poche e spesso contraddittorie.

È noto che il gatto differisca sostanzialmente dagli altri animali nell'abilità di formare coniugati glucuronidi di alcuni xenobiotici ed in particolare dei derivati fenolici a basso peso molecolare. Un metodo di infusione del propofol in TIVA, che permetta di prevedere in modo più accurato possibile l'effettivo comportamento del farmaco e la concentrazione in ogni istante, può permettere di ridurre i rischi perianestetici e migliorare la qualità dell'anestesia.

Al fine di sviluppare un sistema di TCI, un presupposto indispensabile è quello di possedere un *set* di parametri farmacocinetici derivati da un modello compartimentale.

Non esistendo nella letteratura una farmacocinetica tricompartmentale del PPF nel gatto, la prima parte del lavoro è stata dedicata allo studio del modello farmacocinetico ed è esposta nel Capitolo 2.

Nel primo studio è stato possibile ottenere un modello farmacocinetico bi-compartimentale ed uno tri-compartimentale.

I dati di PK tri-compartimentale estrapolati nella prima parte del progetto sono stati utilizzati per programmare il sistema di TCI impiegato nel Capitolo 3.

In questo capitolo viene analizzata la *performance* del sistema prototipo. Vengono anche studiate le concentrazioni *target* di induzione, mantenimento e risveglio.

Il Capitolo 4 è dedicato al perfezionamento del sistema TCI e alla sua validazione. Dai *test* effettuati con il sistema prototipo, descritto nel Capitolo 3, sono ricavate informazioni che permettono, attraverso simulazioni al computer prima, ed una nuova fase di analisi della *performance* poi, di ottenere un sistema perfezionato. Questo secondo sistema avrà incorporato un nuovo modello farmacocinetico, versione modificata in modo artefatto, del primo.

La TIVA è ancora un campo in via di sviluppo. Il progresso tecnologico rende le apparecchiature per infusione sempre più sofisticate, affidabili e sicure. I sistemi infusionali più recenti sono sviluppati incorporando nel microprocessore non solo i parametri PK ma anche le informazioni di PD.

L'industria farmaceutica sviluppa nuovi agenti ipnotici e perfeziona quelli esistenti al fine di rispondere alle necessità dettate dalla TIVA ed avvicinarsi sempre più al farmaco ideale.

CAPITOLO 2.

STUDIO FARMACOCINETICO COMPARTIMENTALE DEL PROPOFOL NEL GATTO

2.1. OBIETTIVO DELLO STUDIO

Sviluppare un modello farmacocinetico compartimentale del propofol nel gatto domestico al fine di ottenere dei parametri da introdurre in un sistema TCI.

2.2. MATERIALI E METODI

2.2.1. Soggetti sperimentali

Questo studio ha ricevuto il parere favorevole da parte del Comitato Etico di Ateneo per la Sperimentazione Animale (CEASA) della Facoltà di Veterinaria, Università di Padova (Protocollo numero 69011, 9 Dicembre 2009. Progetto 57/2009).

Sono stati utilizzati sette gatti domestici di razza europea (n=7), 4 femmine e 3 maschi, interi, di età compresa tra 1 e 3 anni (media $2 \pm 0,5$) afferenti al Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie dell'Università di Padova per essere sottoposti a routinaria chirurgia di gonadectomia. Essi erano clinicamente sani e classificati ASA³ 1, dopo accurata visita clinica; è stato richiesto il consenso informato scritto del proprietario riguardo la procedura chirurgica e l'inclusione nel progetto sperimentale. Sono stati utilizzati come criteri di esclusione: anamnesi di precedenti anestesilogici avversi, di recente anestesia con propofol, gravidanza in corso, malattie epatiche, renali, respiratorie, cardiache, alterazioni ematobiochimiche, età inferiore ad un anno, peso inferiore ai 3 kg o stato di denutrizione/cachessia.

I soggetti hanno osservato un digiuno a partire dalle 12 ore precedenti l'intervento, mentre l'acqua è stata lasciata a disposizione fino al momento della premedicazione.

2.2.2. Protocollo anestesilogico

I gatti sono stati premedicati con 0,01 mg kg⁻¹ di medetomidina (Sedator[®], A.T.I.-Italia), 0,30 mg kg⁻¹ di metadone (Eptadone[®], Molteni Farmaceutici-Italia) e 2,0 mg

³ È la classificazione, accettata internazionalmente, della American Society of Anesthesiologists, che permette una categorizzazione dei pazienti in funzione della presenza o meno di alterazioni organiche o funzionali dell'organismo al momento del trattamento chirurgico ed anestesilogico. Si distinguono 5 Classi che definiscono livelli crescenti di rischio a partire dalla Classe I fino alla Classe V.

kg⁻¹ di ketamina (Ketavet 100[®], Intervet-Italia), in una singola iniezione, per via intramuscolare.

Si è proceduto quindi al posizionamento di un catetere venoso periferico da 22G (Delta ven[®], Delta Med, Italy) in vena cefalica e ad incannulare la vena giugulare controlaterale con un catetere da 20G (Delta ven[®], Delta Med, Italy); entrambi gli accessi venosi sono stati assicurati e protetti con un bendaggio.

L'induzione è stata effettuata con 10 mg kg⁻¹ IV di propofol (Propovet[®], Esteve, Italia), attraverso l'accesso periferico in vena cefalica, utilizzando una pompa per siringhe Graseby[®] 3500. La dose di PPF calcolata è stata somministrata in 60 sec. I pazienti, dopo nebulizzazione della laringe con lidocaina[®] (Fort Dodge Animal Health s.p.a. Italia) diluita allo 0,5%, sono stati intubati e connessi ad un sistema respiratorio tipo Ayres T-piece (modificato secondo Jackson Rees) (Intersurgical[®] Complete Respiratory Systems). L'anestesia è stata quindi mantenuta con Isoflurano in ossigeno 100%, con flusso pari a circa tre volte il volume minuto dell'animale.

I gatti durante la procedura sono stati riscaldati tramite materassino ad aria calda Bair Hugger[®] 505. Nelle femmine è stata iniettata lidocaina[®] (Fort Dodge Animal Health s.p.a. Italia) per via intradermica e sottocutanea, lungo la linea alba, in corrispondenza del sito di incisione, e nel peduncolo ovarico, dopo esteriorizzazione dello stesso, lasciando agire l'anestetico per circa 5 minuti. Nei maschi, lo stesso anestetico locale è stato infiltrato SC sul rafe mediano ed intratesticolare. In entrambi i casi la dose totale è stata calcolata in modo da non superare i 4 mg kg⁻¹.

Nel periodo perianestetico è stato monitorato costantemente l'ECG a tre derivazioni (Datex Ohmeda S/5, GE Healthcare Italia), sono stati, inoltre, monitorati e registrati ogni 5 minuti la pressione arteriosa indiretta tramite metodo doppler (Vettex[®] Uni UV900, Huntleigh Healthcare Ltd) dall'arto anteriore, saturazione di ossigeno (SpO₂, frequenza cardiaca (HR), frequenza respiratoria (RR), CO₂ e gas anestetici espirati (Datex Ohmeda S/5, GE Healthcare Italia).

Al termine dell'intervento i gatti hanno ricevuto 0,3 mg kg⁻¹ IV di meloxicam (Metacam[®] Boehringer Ingelheim Italia) e nelle quattro ore successive, è stato somministrato metadone (Eptadone[®], Molteni Farmaceutici-Italia) a dosaggio compreso tra 0,1 e 0,3 mg kg⁻¹ IM, qualora si evidenziassero segni di dolorabilità,

valutati dal personale medico, con le modalità routinariamente impiegate e basate sull'osservazione di manifestazioni comportamentali e sulla palpazione diretta.

2.2.3. Raccolta dei campioni ematici

Sono stati raccolti campioni ematici (1,0-1,5 ml) per la determinazione della concentrazione di PPF, subito prima dell'induzione e a 3, 5, 8, 13, 20, 30, 50, 90, 120, 180, 240 minuti dal termine dell'iniezione. Per i prelievi è stato utilizzato l'accesso venoso giugulare. Al fine di garantire un prelievo non contaminato dal contenuto dello spazio morto del catetere venoso, sono stati aspirati 1,5 ml di sangue, prima di procedere al campionamento effettivo e, subito dopo, reintegrati insieme ad una pari quantità di Ringer Lattato, così da mantenere il volume circolante. I campioni, posti in provette sterili sottovuoto BD Vacutainer[®] con K₂EDTA (7,2 mg), sono stati mantenuti refrigerati a +4°C e, al termine della raccolta di tutti i prelievi, stoccati a -80°C.

2.2.4. Determinazione delle concentrazioni di propofol

I campioni di sangue intero, stoccati a -80°C, sono stati analizzati entro 2 settimane dalla raccolta, con analisi HPLC, tramite metodo di rilevamento fluorimetrico.

Metodica estrattiva ed analitica di propofol da campioni di sangue di gatto.

La metodica di analisi del propofol è stata allestita sulla base della metodica pubblicata da Plummer nel 1987 e di seguito adattata e validata nel laboratorio di Farmacologia del Dipartimento di Scienze e Tecnologie Veterinarie per la Sicurezza Alimentare dell'Università di Milano.

Per la fase analitica è stato utilizzato, come composto di riferimento per l'allestimento delle rette standard, propofol (2,6-diisopropilfenol) fornito dalla ditta Sigma Aldrich (Italia).

I materiali utilizzati per l'analisi cromatografica dei campioni biologici sono stati:

Prodotti chimici

- Acqua per HPLC (J.T.Baker, Italia);

- Acetonitrile per HPLC (J.T.Baker, Italia);
- Acido Trifluoroacetico (Sigma Aldrich, Italia);
- Metanolo per HPLC (J.T.Baker, Italia);
- Tetrametilammonio idrossido 25% in metanolo (Sigma Aldrich, Italia);
- Cicloesano (J.T.Baker, Italia);
- Sodio diidrogeno fosfato monoidrato (Na_2HPO_4) 0.1M (J.T.Baker, Italia).

Attrezzatura di laboratorio

- Micropipette da 20-200 μL e da 100-1000 μL Gilson;
- Centrifuga refrigerata da banco Labofuge 400R (Heraeus, Italia);
- Agitatore automatico Vortex (VELP, Italia);
- Agitatore magnetico Framo (PBI, Italia);
- Agitatore rotante (Asal, Italia);
- Bilancia analitica Mettler H80 (Mettler, Italia);
- Bilancia tecnica Mettler P1210 (Mettler, Italia);
- Congelatore regolabile a -20 ± 5 °C;
- Frigorifero a $+4 \pm 2$ °C;
- Evaporatore rotante (Jouan RC1010, Italia);

Strumentazione HPLC

- Autosampler Series 200 (Perkin Elmer, Italia);
- Peltier Column Oven Series 200 (Perkin Elmer, Italia);
- Fluorescence Detector LC 240 (Perkin Elmer, Italia);
- Network Chromatography Interface NCI 900 e 600 series (Perkin Elmer Nelson, Italia);
- Computer di acquisizione dati Intel Pentium 4 (1.80 GHz, 524 RAM);
- Software di gestione del sistema HPLC, integrazione ed elaborazione dati TotalChrom Navigator (Perkin Elmer, Italia);
- Colonna per HPLC LiChrospher 100 RP-18 125x4 (Merck, Italia);
- Pre-Colonna LiChrospher (Merck, Italia).

Metodo d'analisi

Considerando che il propofol è significativamente associato agli elementi corpuscolati del sangue, per la metodica analitica sono preferibili campioni di sangue intero. Le concentrazioni di propofol sono state quantificate cromatograficamente (HPLC), impostando la temperatura della colonna pari a quella ambientale (20°C) tramite lo strumento Peltier Column Oven ed il rivelatore fluorimetrico alla lunghezza d'onda di eccitazione (Ex.) di 276 nm e di emissione (Em.) di 310 nm; la pompa è stata impostata a condizioni isocratiche di flusso pari a 1.5 mL min⁻¹.

La fase mobile era composta da una miscela di:

- A: Acqua per HPLC con 0.1% di acido trifluoroacetico.
- B: Acetonitrile (ACN).

Il rapporto di A:B era, rispettivamente, 40:60. Il volume d'iniezione era pari a 50 µL. L'estrazione del propofol dal sangue intero, sia per l'allestimento delle rette di riferimento, che per l'analisi dei campioni provenienti dagli animali trattati con il farmaco, è stata eseguita facendo riferimento alle procedure di seguito riportate:

- 1) a 0.5 ml di sangue intero, posto in provetta a fondo conico, sono stati aggiunti 0.5 ml di Na₂HPO₄ 0.1M e 3 ml di cicloesano;
- 2) il campione è stato posto su un agitatore rotante e fatto ruotare alla velocità di 60 rpm per 15 min;
- 3) dopo centrifugazione a 1150g per 5 min, il surnatante è stato prelevato e trasferito in provetta contenete 50 µl di tetrametilammonio idrossido al 25% in metanolo;
- 4) il campione è stato poi portato a secco, mediante evaporatore rotante mantenuto a temperatura non superiore a 45°C;
- 5) il residuo secco è stato ripreso con 200 µl di fase mobile e circa 100 µl trasferiti in *vials* per HPLC.

La soluzione madre di propofol utilizzata per l'allestimento delle rette di riferimento è stata preparata sciogliendo il propofol in metanolo (1 mg ml⁻¹). Dalla soluzione madre, mediante diluizioni seriali in fase mobile, sono state allestite concentrazioni di propofol pari a 5, 1, 0.5, 0.1, 0.05 e 0.01 µg ml⁻¹.

Le rette di riferimento in sangue intero sono state ottenute fortificando sangue di gatto privo di farmaci o comunque di molecole in grado di interferire con l'analisi cromatografica in programma. Le concentrazioni utilizzate sono state le stesse

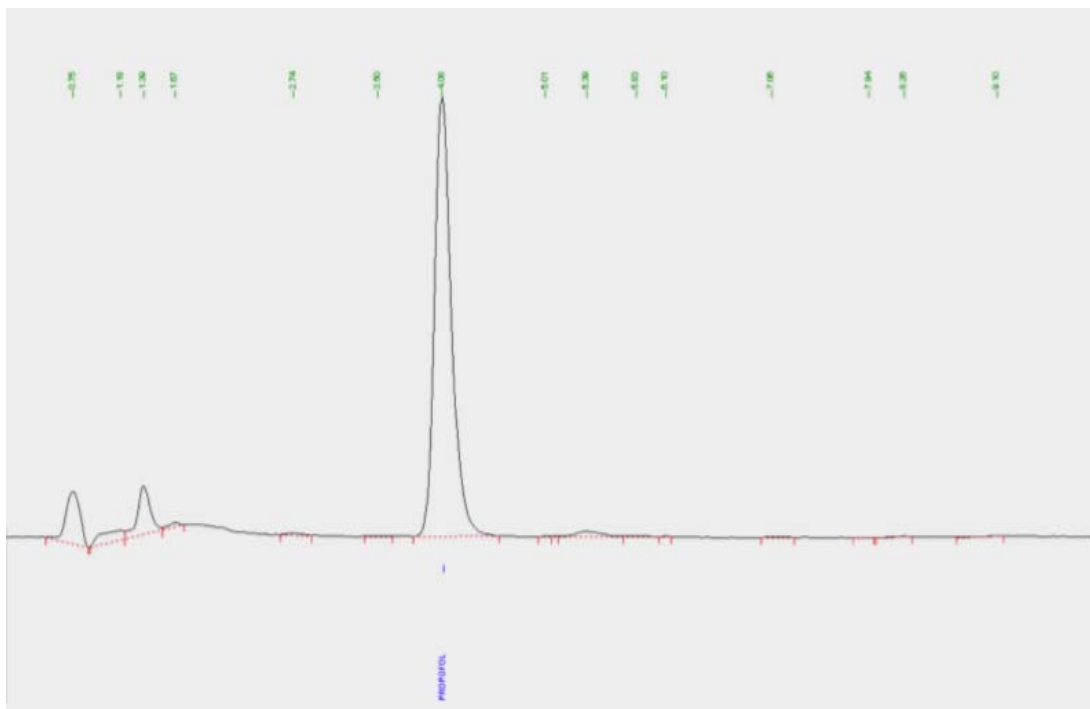
riportate in precedenza relativamente alla preparazione delle rette di riferimento in fase mobile. Per l'allestimento della retta di calibrazione sono stati utilizzati sull'asse delle x le concentrazioni del composto e sull'asse delle y le aree dello stesso. La retta è stata calcolata secondo l'equazione:

$$y = mx.$$

Il tipico cromatogramma di un estratto di sangue contenente propofol è riportato in Figura 7.

Il metodo analitico per la quantificazione del propofol, in campioni di sangue di gatto, è stato validato all'interno del laboratorio per specificità, linearità, precisione ed accuratezza.

Figura 7. Tracciato cromatografico dell'estratto di sangue di un gatto contenente propofol.



2.2.5. Analisi farmacocinetica

I parametri farmacocinetici sono stati dedotti a partire dai dati di concentrazione ematica nel tempo, utilizzando il software Phoenix WinNonLin 6.1 (Tripos, USA), che permette l'analisi compartimentale e non compartimentale dei dati sperimentali.

Alle curve di concentrazione ematica di propofol vs il tempo di ogni gatto sono stati applicati dei modelli cinetici di tipo bi- e tricompartmentale. Il modello che meglio si applicava ad ogni curva è stato scelto in base all'aspetto delle concentrazioni osservate e predette, alla riduzione della somma dei quadrati residui e all'applicazione del test di verifica delle informazioni di Akaike (Akaike's information criterion, AIC) (Yamaoka K. et al, 1978).

Tutti i dati sono stati pesati per l'inverso del quadrato del valore del modello. Le concentrazioni di PPF dopo iniezione IV sono state adattate alla seguente equazione bi-esponenziale:

$$C_{(t)} = A \exp(-\alpha t) + B \exp(-\beta t),$$

dove $C_{(t)}$ ($\mu\text{g ml}^{-1}$) è la concentrazione plasmatica di PPF al tempo t ; A e B sono le concentrazioni plasmatiche estrapolate al tempo zero delle fasi di distribuzione ed eliminazione, rispettivamente; e α e β sono le costanti di velocità delle fasi di distribuzione ed eliminazione del PPF, rispettivamente.

L'emivita di distribuzione ($t_{1/2\alpha}$) e l'emivita di eliminazione ($t_{1/2\beta}$) sono state calcolate come logaritmo naturale di $2/\alpha$ e logaritmo naturale di $2/\beta$, rispettivamente; la concentrazione plasmatica al tempo 0 (C_0) è stata calcolata come la somma delle intercette.

Le concentrazioni plasmatiche di PPF dopo iniezione IV sono state adattate alla seguente equazione tri-esponenziale:

$$C_{(t)} = A \exp(-\alpha t) + B \exp(-\beta t) + C \exp(-\gamma t),$$

dove $C_{(t)}$ ($\mu\text{g ml}^{-1}$) è la concentrazione plasmatica di PPF al tempo t ; A, B e C sono le concentrazioni plasmatiche estrapolate al tempo zero, delle fasi di distribuzione ed eliminazione, rispettivamente; e α , β e γ sono le costanti di velocità delle fasi di rapida e lenta distribuzione e di eliminazione del PPF, rispettivamente.

L'emivita di distribuzione rapida ($t_{1/2\alpha}$), l'emivita di distribuzione lenta ($t_{1/2\beta}$) e l'emivita di eliminazione ($t_{1/2\gamma}$) sono state calcolate come $\ln 2/\alpha$, $\ln 2/\beta$ e $\ln 2/\gamma$, rispettivamente; la concentrazione plasmatica al tempo 0 (C_0) è stata calcolata come la somma delle intercette.

2.3. RISULTATI

Il metodo analitico si è dimostrato specifico per il propofol, non essendo presente, al tempo di ritenzione del farmaco (4,1 min), nessun tipo di picco interferente (Figura 8).

La validazione del metodo analitico ha mostrato una relazione lineare (valore di $r^2 > 0,98$) tra le concentrazioni del farmaco e l'area dei picchi nell'intervallo investigato (da $0,01 \mu\text{g mL}^{-1}$ a $5 \mu\text{g mL}^{-1}$) (Tabella 3).

Figura 8. Tracciato cromatografico relativo al campione T0, prima della somministrazione di propofol, in un soggetto dello studio. Non vi sono picchi interferenti al tempo di ritenzione del propofol (4,1 min).

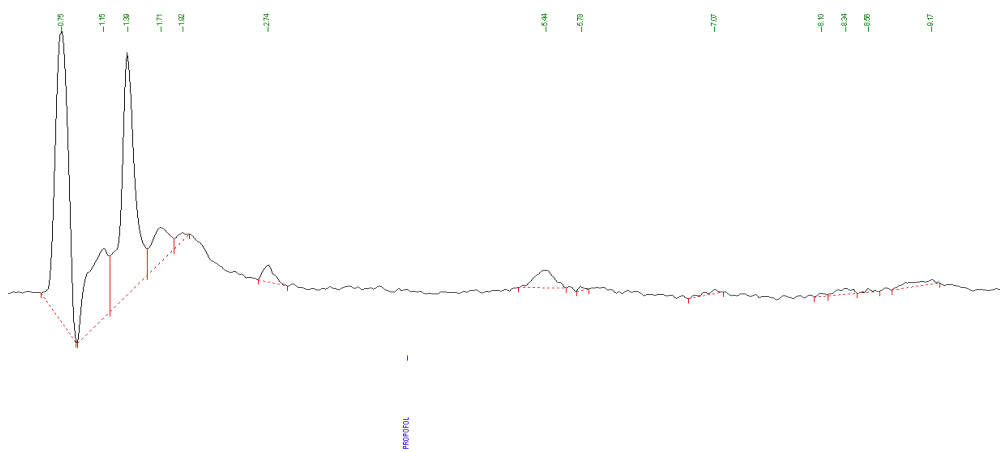


Tabella 3: Validazione intra-laboratorio del metodo analitico per la determinazione del propofol su sangue intero.

Parametro (unità)	Risultato
LOQ ($\mu\text{g/mL}$)	0,01
Recupero (%)	73 ± 10
Ripetibilità <i>intra-day</i> (CV%)	0,2 – 0,16
Accuratezza (%)	0,19 – 4,45

Il recupero è riportato come media \pm DS
La ripetibilità *intra-day* e l'accuratezza sono riportate come intervallo di valori.
CV= coefficiente variabilità; LdQ=Limite di quantificazione

Il limite di quantificazione (LOQ) è stato fissato a $0,01 \mu\text{g mL}^{-1}$. La ripetibilità *intra-day* è stata misurata come coefficiente di variabilità (CV %) su sei repliche a tre concentrazioni diverse, mentre l'accuratezza (%) è stata misurata come il grado di concordanza alla concentrazione aggiunta alle stesse repliche. I campioni di sangue intero si sono rivelati stabili al congelamento, per un periodo di due settimane.

Le concentrazioni di PPF nei gatti ($n=7$) dopo singolo bolo endovenoso (10 mg kg^{-1}) somministrato in 60 secondi, sono riportate in Tabella 4 e graficamente illustrate in Figura 9, in Figura 10, come media della popolazione esaminata e in Figura 11.

I risultati sono espressi come media \pm deviazione standard (\pm DS).

Dopo il bolo di PPF la concentrazione plasmatica a 3 minuti ha mostrato un picco ($5,91 \pm 1,98 \mu\text{g mL}^{-1}$) e successivamente, in tutti i soggetti ($n=7$) le concentrazioni plasmatiche hanno subito un rapido declino, nei primi 25-30 minuti, seguito da una fase di diminuzione più lenta. In tre gatti (2, 3 e 6) su sette si è osservato un secondario, rapido e transitorio aumento della concentrazione, tra i 13 e i 30 minuti iniziali. I restanti quattro gatti hanno mostrato un andamento monofasico della concentrazione rispetto al tempo.

In tutti i soggetti, dopo 240 minuti erano ancora rilevabili concentrazioni relativamente consistenti di PPF ($0,24 \pm 0,06 \mu\text{g mL}^{-1}$), indicando la presenza di un compartimento profondo.

Si è osservata una variabilità tra soggetti relativamente alta (CV% medio di $29,38 \pm 4,13$), soprattutto nei primi 30 minuti, con un picco a 20 minuti (CV% = $35,60$).

La curva delle concentrazioni di PPF rispetto al tempo è descritta più precisamente da un modello tri-compartimentale aperto, rappresentato schematicamente nella Figura 12, in cui vengono riportati i valori ottenuti per i volumi dei tre compartimenti e le costanti che descrivono il movimento del farmaco tra essi, come media \pm deviazione standard.

Nella Tabella 7 Analisi statistica descrittiva dei parametri farmacocinetici del propofol IV.

Tabella 4: Concentrazioni plasmatiche di propofol ($\mu\text{g ml}^{-1}$) nei gatti (n=7) dopo singolo bolo endovenoso di 10 mg kg^{-1} in 60 secondi.

Tempo (min)	Concentrazioni plasmatiche ($\mu\text{g ml}^{-1}$)							Media	d.s.
	gatto 1 3,2 kg	gatto 2 3,6 kg	gatto 3 4,0 kg	gatto 4 3,0 kg	gatto 5 3,3 kg	gatto 6 4,3 kg	gatto 7 4,0 kg		
3	6,84	4,13	3,6	6,44	4,08	8,63	7,67	5,91	1,98
5	4,69	3,81	3,07	6,45	3,61	6,09	6,16	4,84	1,39
8	3,42	3,09	2,92	6,06	2,47	4,05	5,28	3,90	1,32
13	2,78	2,97	3,03	4,79	1,8	4,06	3,82	3,32	0,98
20	2,21	1,75	4,19	3,21	1,47	2,75	3,35	2,70	0,96
30	1,72	1,77	2,04	2,63	1,34	2,93	1,96	2,06	0,55
50	1,2	1,28	1,52	1,85	1,05	1,93	1,36	1,46	0,33
90	0,81	0,78*	1,35	1,31	0,66	1,11	0,8	1,01	0,29
120	0,88	0,69	0,74*	1,02	0,68	1,14	0,48	0,82	0,24
180	0,31		0,37	0,52	0,51	0,43	0,21	0,39	0,12
240	0,3	0,28	0,25	0,33*	0,23	0,26	0,14	0,24	0,06

Figura 9. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol nei 7 gatti, nelle 4 ore successive all'iniezione di un singolo bolo di propofol (10 mg ml^{-1}).

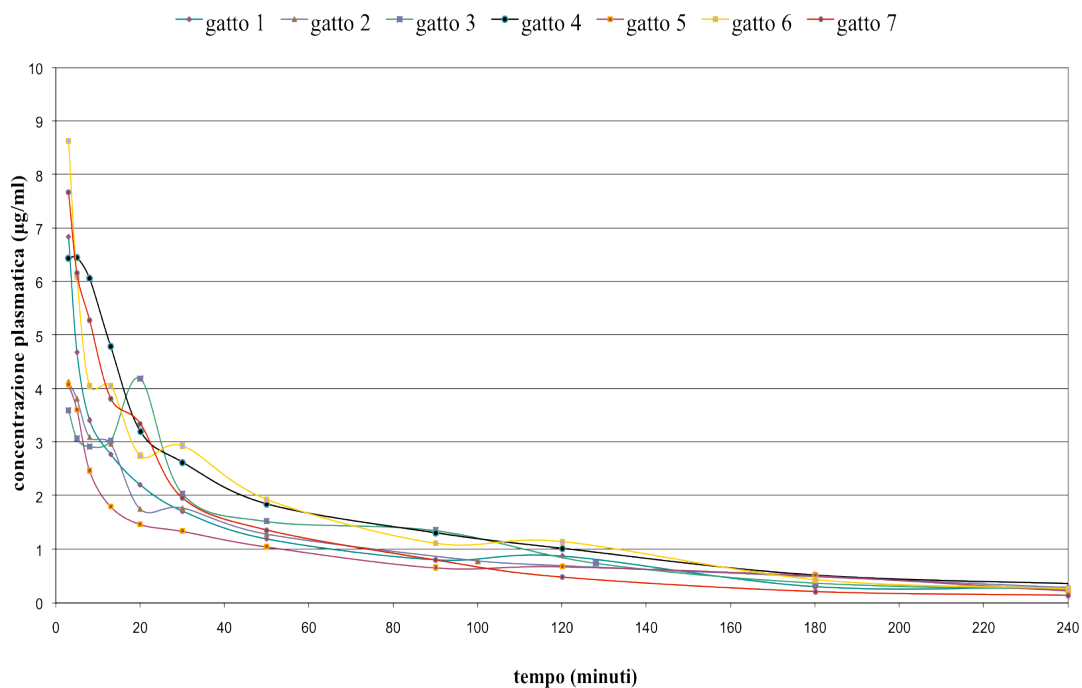


Figura 10. Andamento delle concentrazioni plasmatiche medie di propofol nei gatti ($n=7$), nelle 4 ore successive all'iniezione di un singolo bolo di propofol (10 mg ml^{-1}).

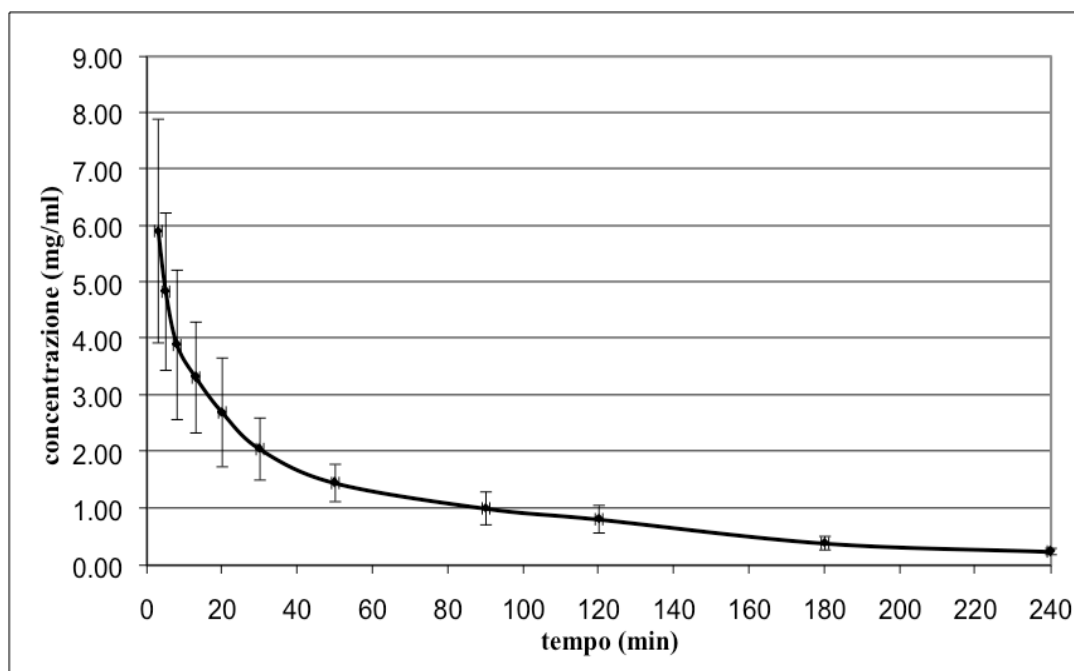


Figura 11. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol nei singoli gatti, nelle 4 ore successive all'iniezione di un singolo bolo di propofol (10 mg ml^{-1}).

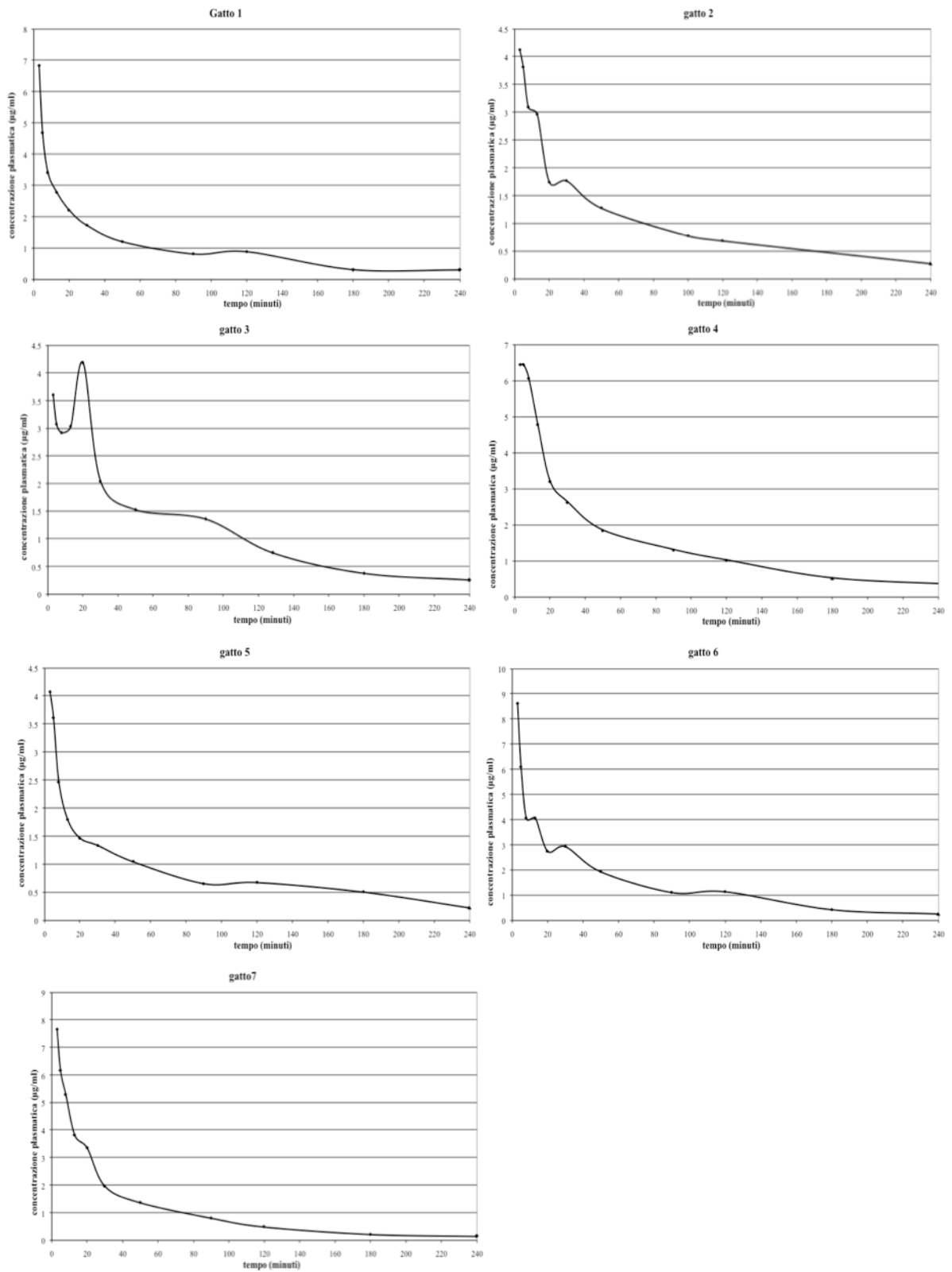


Tabella 5: Parametri farmacocinetici del propofol nel gatto, dopo singolo bolo IV, determinati utilizzando un modello bi-compartimentale lineare aperto.

Parametro	GATTO							media	d.s.
	1	2	3	4	5	6	7		
AUC (min µg/ml)	278,84	265,23	314,67	393,54	241,18	373,07	261,89	304,06	58,82
K10_HL (min)	22,61	37,38	58,29	32,98	26,45	14,55	21,18	30,49	14,41
t ½α (min)	4,59	8,36	46,81	9,29	3,82	1,99	8,94	11,97	15,62
t ½β (min)	81,42	90,03	134,66	83,07	97,29	60,17	58,98	86,52	25,61
K10 (l/min)	0,03	0,02	0,01	0,02	0,03	0,05	0,03	0,03	0,01
K12 (l/min)	0,09	0,04	0,00	0,03	0,11	0,23	0,03	0,08	0,08
K21 (l/min)	0,04	0,03	0,01	0,03	0,05	0,08	0,03	0,04	0,02
Cmax (µg/ml)	8,55	4,92	3,74	8,27	6,32	17,77	8,57	8,31	4,58
V1 (µg/ml)	1169,70	2033,30	2672,57	1209,12	1582,05	562,65	1166,99	1485,20	688,93
CL (ml/min/kg)	35,86	37,70	31,78	25,41	41,46	26,80	38,18	33,89	6,07
AUMC (min ² µg/ml)	27951,05	29946,09	33293,19	39155,33	30287,82	29023,41	16256,54	29416,20	6908,93
MRT (min)	100,24	112,90	105,80	99,50	125,58	77,80	62,07	97,70	21,41
Vss (ml/kg)	3594,82	4256,78	3362,41	2528,27	5207,03	2085,27	2370,24	3343,55	1122,89
V2 (ml/kg)	2425,12	2223,48	689,84	1319,15	3624,98	1522,62	1203,26	1858,35	980,95
CLD2 (mL/min/kg)	101,72	76,54	4,42	39,08	178,58	128,08	33,51	80,28	60,64

Cmax = Concentrazione massima; V1 = volume di distribuzione del compartimento centrale; V2 = volume di distribuzione del compartimento periferico; K12, K21 = Costanti di trasferimento tra i compartimenti centrale e periferico; K10 = Costante di eliminazione dal compartimento centrale; K10 HL = Emivita di eliminazione; t ½α, t ½β = Emivite di distribuzione e di eliminazione; AUC = Area sotto la curva; Cl = Clearance; MRT = Tempo medio di permanenza; VSS = Volume di distribuzione allo stato stazionario; CLD2 = Clearance tra il compartimento 1 e 2.

Tabella 6: Parametri farmacocinetici del propofol nel gatto, dopo singolo bolo IV, determinati utilizzando un modello tri-compartimentale lineare aperto.

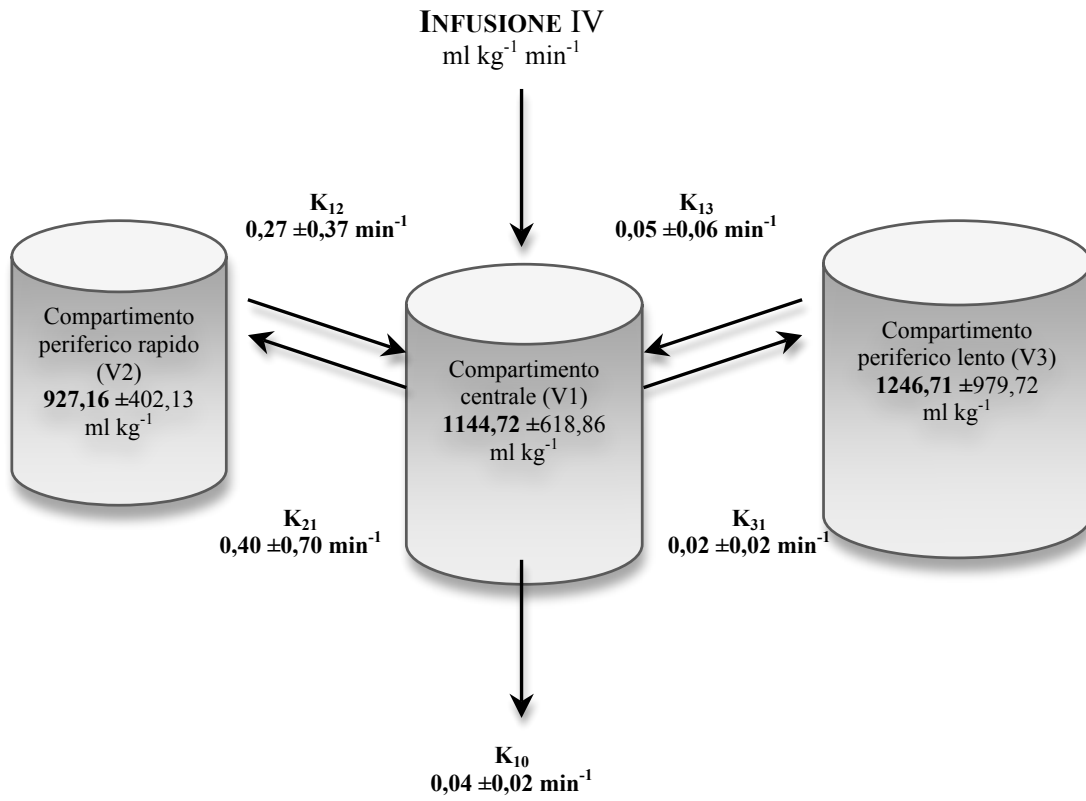
Parametro	GATTO							MEDIA	DS
	1	2	3	4	5	6	7		
Cmax (µg/ml)	22,11	5,09	5,84	8,38	6,56	23,39	13,52	12,13	7,77
V1 (ml/kg)	452,38	1963,97	1712,14	1192,63	1524,89	427,45	739,55	1144,72	618,86
K21 (1/min)	0,21	0,05	1,96	0,03	0,09	0,14	0,31	0,40	0,70
K31 (1/min)	0,03	0,02	0,01	0,01	0,04	0,05	0,02	0,02	0,02
K10 (1/min)	0,08	0,02	0,02	0,02	0,03	0,06	0,05	0,04	0,02
K12 (1/min)	0,29	0,04	1,09	0,04	0,05	0,24	0,18	0,27	0,37
K13 (1/min)	0,15	0,01	0,00	0,00	0,08	0,10	0,04	0,05	0,06
K10 HL (min)	9,22	36,95	37,34	34,82	25,17	11,09	13,72	24,05	12,62
t ½α (min)	1,05	6,73	0,23	9,09	3,30	1,37	1,31	3,30	3,35
t ½β (min)	7,86	32,14	43,33	86,96	10,19	9,42	10,71	28,66	29,13
t ½γ (min)	86,76	101,87	92,69	128,27	96,69	63,89	60,77	90,14	23,11
AUC (min µg/ml)	294,10	271,45	314,66	421,16	238,13	374,27	267,71	311,64	64,79
CL (mL/min/kg)	34,00	36,84	31,78	23,74	41,99	26,72	37,35	33,20	6,35
MRT (min)	99,22	120,02	96,58	116,85	123,85	78,68	61,24	99,49	23,17
Vss (mL/kg)	3373,84	4421,58	3069,21	2774,43	5201,19	2102,13	2287,68	3318,58	1130,24
V2 (mL/kg)	628,12	1443,24	951,88	1480,75	850,77	714,50	420,82	927,16	402,13
CLD2 (mL/min/kg)	132,84	73,81	1869,31	41,87	75,46	101,26	132,40	346,71	672,21
V3 (mL/kg)	2293,34	1014,37	405,20	101,05	2825,53	960,17	1127,30	1246,71	979,72
CLD3 (mL/min/kg)	67,31	15,98	4,07	0,59	118,56	43,61	27,78	39,70	41,83

Cmax = Concentrazione massima; V1, V2, V3 = volume di distribuzione dei compartimenti 1, 2 e 3, rispettivamente; K12, K21, K13, K31 = Costanti di trasferimento tra i compartimenti indicati; K10 = Costante di eliminazione dal compartimento centrale; K10 HL = Emivita di eliminazione; t ½α, t ½β, t ½γ = Emivite di distribuzione rapida, lenta e di eliminazione; AUC = Area sotto la curva ; Cl = Clearance; MRT = Tempo medio di permanenza; VSS = Volume di distribuzione allo stato stazionario; CLD2 e CLD3 = Clearance tra il compartimento 1 e 2 ed 1 e 3, rispettivamente.

Tabella 7: Analisi statistica descrittiva dei parametri farmacocinetici del propofol IV.

Parametro	MEDIA	DS	Err. std. Medio	MIN	MAX	RANGE	MEDIANA
Cmax (µg/ml)	12,13	7,77	2,94	5,09	23,39	18,30	8,38
V1 (ml/kg)	1144,72	618,86	233,91	427,45	1963,97	1536,52	1192,63
K21 (1/min)	0,40	0,70	0,26	0,03	1,96	1,94	0,14
K31 (1/min)	0,02	0,02	0,01	0,01	0,05	0,04	0,02
K10 (1/min)	0,04	0,02	0,01	0,02	0,08	0,06	0,03
K12 (1/min)	0,27	0,37	0,14	0,04	1,09	1,06	0,18
K13 (1/min)	0,05	0,06	0,02	0,00	0,15	0,15	0,04
K10 HL (min)	24,05	12,62	4,77	9,22	37,34	28,12	25,17
t ½α (min)	3,30	3,35	1,27	0,23	9,09	8,86	1,37
t ½β (min)	28,66	29,13	11,01	7,86	86,96	79,10	10,71
t ½γ (min)	90,14	23,11	8,73	60,77	128,27	67,50	92,69
AUC (min µg/ml)	311,64	64,79	24,49	238,13	421,16	183,04	294,10
CL (mL/min/kg)	33,20	6,35	2,40	23,74	41,99	18,25	34,00
MRT (min)	99,49	23,17	8,76	61,24	123,85	62,61	99,22
Vss (mL/kg)	3318,58	1130,24	427,19	2102,13	5201,19	3099,06	3069,21
V2 (mL/kg)	927,16	402,13	151,99	420,82	1480,75	1059,93	850,77
CLD2 (mL/min/kg)	346,71	672,21	254,07	41,87	1869,31	1827,44	101,26
V3 (mL/kg)	1246,71	979,72	370,30	101,05	2825,53	2724,47	1014,37
CLD3 (mL/min/kg)	39,70	41,83	15,81	0,59	118,56	117,97	27,78

Figura 12. Modello farmacocinetico tri-compartimentale aperto del propofol nel gatto: rappresentazione schematica.



2.4. DISCUSSIONE

Il gatto possiede una scarsa capacità di metabolizzare alcuni farmaci. Il gene preposto alla produzione dell'enzima glucuronil transferasi UGT1A6 è stato riconosciuto come uno pseudo gene nel gatto e, a causa di tale anomalia genetica, la proteina da esso prodotta è generalmente non funzionale (Court e Greenblatt, 2000).

Per questo motivo, è probabile che il comportamento farmacocinetico del propofol possa differire marcatamente da quello osservato nell'uomo o in altre specie.

Il presente lavoro riporta per la prima volta la farmacocinetica tri-compartimentale della formulazione del PPF attualmente più utilizzata. In uno studio del 1978, Adam et al. hanno descritto la farmacocinetica della prima formulazione del propofol (ICI35868) in Cremophor-EL, in quattro gatti. I parametri farmacocinetici riportati nel presente studio differiscono, in parte, da quelli ottenuti con modello bi-compartimentale da Adam et al, probabilmente per la diversa formulazione utilizzata, per la maggiore numerosità del campione statistico del nostro studio e per la possibile presenza di una clearance polmonare della formulazione in emulsione (Matot et al, 1993).

2.4.1. Modello compartimentale

Il declino della concentrazione di PPF nel sangue dei gatti, è risultato essere meglio descritto da un modello a tre funzioni esponenziali, con andamento simile al declino tri-esponenziale descritto nell'uomo e nel cane (Cockshott et al, 1987; Nolan et al, 1993).

Il piano di raccolta dei campioni ematici e, in particolare, il momento di prelievo del primo e dell'ultimo campione possono risultare di grande influenza nella stima del compartimento centrale e nella determinazione del modello farmacocinetico (Chiou, 1980; Coetzee et al, 1995). Al fine di individuare la terza fase della cinetica, di lenta distribuzione dal compartimento profondo, è necessario un piano di raccolta sufficientemente lungo.

Nella capra l'andamento delle concentrazioni plasmatiche di PPF è delineato bene da un declino bi-esponenziale (Reid et al, 1993). In questa specie l'emivita di

eliminazione è breve (15,5 min), il volume di distribuzione allo stato stazionario piuttosto grande (2,56 L/Kg) e la clearance rapida ($275 \text{ ml min}^{-1}\text{Kg}^{-1}$). Il fatto che nello studio in questione, non vi fossero quantità di PPF misurabili nel sangue di alcun animale, dopo 120 minuti, sembra indicare che un declino bi-esponenziale sia appropriato in questa specie; non si può, tuttavia escludere che una dose più consistente di quella utilizzata nel lavoro avrebbe potuto mettere in evidenza una terza fase di lento declino (Reid et al, 1993).

In un lavoro del 1993 Reid e Nolan osservarono, nel cane un simile declino bifasico, ma essi indicarono come possibili ragioni di tali risultati, l'impiego di una bassa dose di induzione ed un periodo di misurazione delle concentrazioni plasmatiche di sole 3 ore.

In questo lavoro, la durata dei campionamenti (4 ore), una dose di PPF piuttosto elevata (10 mg kg^{-1}) ed una metodica analitica per il dosaggio del PPF dotata di elevata sensibilità, ci hanno permesso di ottenere un modello a tre compartimenti e questo era stato premesso come importante prerequisito per il successivo sviluppo di un sistema TCI (Kinabo e McKellar, 1989).

L'aumento secondario della concentrazione di propofol, osservato nei gatti n. 2, 3 e 6, tra i 13 e i 30 minuti, non è spiegato dai convenzionali modelli compartimentali che prevedono un declino monofasico.

L'osservazione di picchi della concentrazione plasmatica di PPF, verificatisi nella fase precoce di declino farmacocinetico, dopo somministrazione rapida, è descritta da precedenti studi sia nell'uomo (Kay et al, 1985; Kay et al, 1986) che nel cane, con tempistica di comparsa sovrapponibile (Zoran et al, 1993; Morey et al, 2006).

Se il primo campione di plasma non è raccolto prima di 2 o più minuti dopo la somministrazione del farmaco (come in molti studi di farmacocinetica), la concentrazione seguirà un declino monotono, coerentemente con il modello compartimentale. Tuttavia, un campionamento frequente, effettuato durante il primo minuto rivela un aumento iniziale, seguito da oscillazioni, e quindi, dalla diminuzione monofasica prevista (Fisher, 1996). Le oscillazioni da noi osservate sono, tuttavia, successive ai 2 minuti e non sembra probabile che esse siano da imputarsi alla disomogeneità di distribuzione propria, generalmente, dei primi 60-120 secondi.

Secondo Levitt e Schnider (2005) nell'uomo Un'aliquota della dose viene sequestrata e, quindi, rilasciata dai polmoni. Questo potrebbe spiegare il transitorio aumento della concentrazione di PPF in tre gatti su sette. Tali autori hanno di fatti riportato che, in alcuni soggetti, fino al sessanta per cento del propofol in emulsione lipidica è sequestrato durante il primo passaggio attraverso il polmone, per essere poi rilasciato lentamente (Levitt e Schnider, 2005). Il sequestro polmonare di parte del bolo iniziale con successivo lento rilascio potrebbe fornire una possibile spiegazione dell'andamento delle concentrazioni iniziali in alcuni soggetti, anche se i modelli su base fisiologica proposti da Levitt e Schnider non prevedono la comparsa di veri e propri picchi della concentrazione di PPF quanto, piuttosto, un declino con una fase iniziale a minor inclinazione, derivante dall'aggiunta di una funzione esponenziale corrispondente al rilascio polmonare.

Sembra che la comparsa dei picchi sia più frequentemente associata a campionamento di sangue venoso.

Krejcie e Avram (1999) hanno coniato il termine di cinetiche *front-end* (una possibile traduzione del termine anglosassone è "cinetiche di ingresso") commentando, in un editoriale, studi di Upton e colleghi su pecore monitorate cronicamente, riferendosi allo studio di cinetiche che descrivano i primi istanti dopo la somministrazione.

Inizialmente, il farmaco si mescola al flusso venoso, prima di entrare nel circolo polmonare, dove subisce un primo passaggio, per poi accedere al circolo sistemico e passare attraverso fegato ed altri organi. Il polmone può ritardare il passaggio del farmaco e rimuoverne una quota anche consistente (Kuipers et al, 1999).

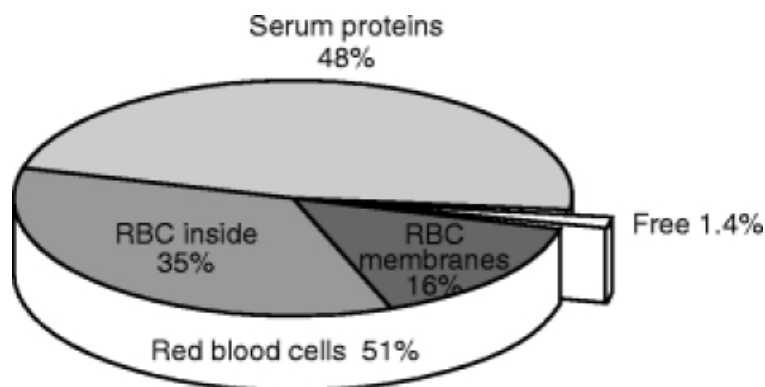
I classici modelli poliesponenziali interpretano erroneamente la prima parte della cinetica, assumendo il compartimento centrale come omogeneo, piuttosto che come sistema articolato di organi in serie e in parallelo.

Diversi studi hanno indicato che la gittata cardiaca (CO) possiede un'influenza determinante sulle concentrazioni plasmatiche di un farmaco, per lo stesso principio per cui la diluizione di una molecola di riferimento è impiegata per stimare il CO (Upton et al, 1999; Adachi et al, 2001). Quando il CO diminuisce, le concentrazioni arteriose di picco aumentano in risposta ad un bolo e l'area sottesa alla curva di concentrazione arteriosa aumenta. È stato dimostrato che il PPF riduca la contrattilità

miocardica, la frequenza cardiaca, e la pressione arteriosa nel gatto (Yang et al, 1997). È ipotizzabile che l'osservazione, nel nostro studio, di picchi di ricircolo tardivi rispetto a quanto riportato in letteratura, sia stata dovuta, in parte, alla depressione cardiovascolare indotta dalla rapida somministrazione di un bolo consistente di PPF.

In due dei gatti che hanno manifestato il picco plasmatico di PPF (n. 2 e 3), abbiamo osservato un incremento significativo di frequenza cardiaca e pressione arteriosa, legati allo stimolo chirurgico dello stiramento del peduncolo ovarico, proprio in corrispondenza del picco. Questa osservazione è, apparentemente, in contrasto con quanto ci si aspetterebbe considerando tachicardia e ipertensione segni di un aumento della gittata cardiaca (Upton et al, 1999; Adachi et al, 2001). È, tuttavia, probabile che a causa della depressione miocardica indotta dal PPF (Yang et al, 1997) e per il contemporaneo incremento del post-carico provocato dalle catecolamine rilasciate per lo stimolo, la gittata cardiaca risulti inalterata, se non ridotta, pur con un incremento della pressione arteriosa (Trench et al, 1978).

Figura 13. Distribuzione del propofol nel sangue. Dati relativi ad un ematocrito di 0,45 e concentrazioni di PPF nel sangue di $1 \mu\text{g ml}^{-1}$. I valori sono simili nel range clinicamente rilevante ($0,5-16 \mu\text{g ml}^{-1}$). Tratto da Mazoit e Samii, 1999.



Lo stimolo chirurgico, tramite il rilascio di catecolamine in circolo, determina la contrazione splenica. Nel gatto e nel cane la milza sequestra quasi il 50% del volume eritrocitario totale o il 13% del volume ematico. La contrazione splenica α -adrenergica mediata rilascia il contenuto eritrocitario in circolo (Barcroft e Poole, 1972; Guntheroth e Mullins, 1963; Merin et al, 1977).

Poiché una grande quota di PPF è associata ai globuli rossi (51%) (Figura 13) (Mazoit e Samii, 1999; Suarez et al, 2000), il quantitativo rilasciato in circolo a seguito della contrazione splenica potrebbe determinare un incremento sensibile e misurabile di PPF, soprattutto se si verifica precocemente, quando la milza ha incamerato sangue ricco di anestetico. La milza e, come descritto in precedenza, il polmone, pertanto, potrebbero comportarsi, nelle prime fasi di distribuzione, da serbatoi per il PPF, da cui, in seguito alle modificazioni indotte dallo stimolo chirurgico, ritornare nel compartimento centrale.

Zoran e colleghi nel 1993, hanno osservato picchi secondari di concentrazione del PPF nel cane, ipotizzando, tra le varie, la possibilità che le variazioni di composizione ematica, per contrazione splenica, a seguito di venipuntura, fossero implicate nella comparsa del fenomeno.

2.4.2. Distribuzione

L'emivita di distribuzione rapida ($T_{1/2\alpha}$) ($3,30 \pm 3,35$ min) è risultata molto veloce e simile a quella riportata da Adam nel 1980, utilizzando propofol formulato in cremophor (ICI35868) in quattro gatti. Confrontando il valore da noi ottenuto con quelli riportati in letteratura nelle diverse specie animali (Tabella 1) si nota che $T_{1/2\alpha}$ nel gatto, è inferiore che nel cane e nel suino, maggiore che nel coniglio e nella capra e quasi sovrapponibile al ratto. Dopo somministrazione endovenosa, nei gatti, si verifica una rapida redistribuzione ai tessuti meno perfusi, con conseguente rapido declino delle concentrazioni nel sangue e nel cervello e cessazione dell'effetto ipnotico.

Il volume di distribuzione (V_{dSS}), come previsto per un agente anestetico altamente liposolubile, è risultato essere relativamente elevato ($3318,58 \pm 1130,24$ ml kg^{-1}), anche se inferiore a quello riportato in letteratura per il cane e a quanto riportato da Cleale et al. (2009) per il gatto.

Il volume apparente del compartimento centrale o volume iniziale di distribuzione (V_1), nei gatti, si è rivelato essere piuttosto ampio ($1144,72 \pm 618,86$ ml kg^{-1}), se paragonato a quanto descritto in letteratura nell'uomo (Schuttler e Ihmsen, 2000; Schuttler et al, 1985 Bailey et al, 1996; Hiraoka et al, 2004)

Un problema piuttosto comune consiste nella corretta stima di V_1 , che sembra essere in relazione con il tempo e la sede del primo prelievo (Upton e Ludbrook, 1997). Poiché i modelli tri-compartimentali basati sul singolo bolo rapido non sono, spesso, accurati nella stima di V_1 , i sistemi TCI che integrano tali modelli tendono a sottostimare le concentrazioni target. A tal fine, è preferibile sviluppare i sistemi TCI da modelli farmacocinetici ottenuti dopo breve infusione (Avram e Krejcie, 2003).

2.4.3. Emivita di eliminazione

I dati cinetici ottenuti evidenziano un'emivita di eliminazione ($t_{1/2\gamma}$) breve ($90,14 \pm 23,11$ min). Tuttavia, dato il limitato periodo considerato, tale valore potrebbe non essere del tutto indicativo della reale emivita di eliminazione. In un precedente studio in cui abbiamo comparato la farmacocinetica nel gatto, dopo singolo bolo IV e dopo infusione continua IV, il periodo di campionamento è stato protratto per 24 ore per il secondo gruppo (Zonca et al, 2010). I dati cinetici riferiti alle prime 4 ore dopo la somministrazione nei due diversi gruppi evidenziano un'emivita di eliminazione breve e simile ($T_{1/2\lambda z} = 1.36 \pm 0.17$ h vs 1.75 ± 0.32 h) e sovrapponibile al risultato del presente lavoro. Esaminando la cinetica dei dati a 24 ore, si è notato come in realtà l'emivita di eliminazione sia più lunga ($T_{1/2\lambda z} = 9.92 \pm 1.61$ h) e più in linea con i dati ottenuti da Cleale et al (2009). Le concentrazioni osservate in tempi più distanti erano molto ridotte in quanto ottenute con un dosaggio basso e per un tempo di infusione breve e, seppur ininfluenti dal punto di vista clinico poiché inferiori alla concentrazione efficace del PPF, confermano la presenza di un terzo comparto quale sito di accumulo. Tali concentrazioni potrebbero assumere maggior significato e influire sul tempo di risveglio e di recupero dell'animale nel caso di un'infusione con dose e/o durata superiori (Zonca et al, 2010).

2.4.4. Clearance e metabolismo

Il valore di clearance ottenuto ($33,20 \pm 6,35$ ml min^{-1} kg^{-1}) è discretamente sovrapponibile a quelli descritti nell'uomo ($25-31$ ml min^{-1} kg^{-1}), più alto di quanto riportato per il gatto da Cleale et al. (2009) ($17,2$ ml min^{-1} kg^{-1}) e più basso che nel cane (Tabella 1).

Il flusso ematico del fegato, nel gatto, è riportato essere tra $26,8$ e $34,3$ ml min^{-1} kg^{-1} (Larsen, 1963a; Larsen, 1963b). L'indice di estrazione epatico del propofol è circa

pari a 1; la clearance di eliminazione, cioè, è flusso epatico dipendente e varia con il variare del CO e del flusso epatico (Hiraoka et al, 2004). Sulla base dei risultati ottenuti, si può supporre che il PPF nel gatto segua una cinetica di tipo dose-indipendente.

In questo lavoro è descritta per la prima volta una cinetica tri-compartimentale per il propofol nel gatto.

Il campionamento di tipo arterioso piuttosto che venoso, è generalmente da preferirsi in uno studio farmacocinetico. Ottenere prelievi arteriosi ripetuti in gatti coscienti è, tuttavia, tecnicamente indaginoso e rappresenta uno stress per gli animali non accettabile.

Il tempo del primo campionamento (tre minuti) non permette una accurata descrizione della cosiddetta farmacocinetica front-end, ovvero delle primissime fasi cinetiche.

Da questo studio abbiamo ottenuto un modello farmacocinetico da testare con un sistema TCI per il propofol nel gatto, come ci eravamo prefissati.

La scelta di derivare la farmacocinetica compartimentale dalla curva di declino ottenuta dopo bolo endovenoso rapido, può rappresentare, tuttavia, una eventuale limitazione nell'applicazione del modello stesso per programmare un sistema TCI e una possibile sottostima delle concentrazioni plasmatiche di target di un simile sistema, è probabile (Avram e Krejcie, 2003).

CAPITOLO 3.

SVILUPPO E ANALISI DELLA PERFORMANCE DI UN SISTEMA TCI PER IL PROPOFOL NEL GATTO

3.1. INTRODUZIONE

Il concetto di infusione controllata a target (TCI) è stato descritto nei Paragrafi 1.2.3, 1.2.4 e 1.2.4.

Questa modalità di somministrazione utilizza dei parametri farmacocinetici del farmaco, specifici per la specie, incorporati in un software, che elabora sulla base di questi e del target plasmatico voluto, la quantità di anestetico da infondere in ogni istante e la trasmette ad una pompa infusioneale

Al fine di ottenere una *performance* accettabile del sistema è fondamentale utilizzare un set di parametri PK in grado di fornire una buona descrizione della distribuzione e dell'eliminazione del farmaco nella specie studiata.

Lo sviluppo di un sistema TCI per l'infusione di PPF nel gatto si è scontrato con la quasi totale assenza di dati sperimentali riguardanti la farmacocinetica in questa specie.

Dal lavoro descritto nel Capitolo 2 è stato possibile ottenere un modello farmacocinetico compartimentale da cui estrapolare i parametri di PK necessari.

Una seconda difficoltà è stata la scelta dei target plasmatici di intubazione e mantenimento, non essendo disponibili informazioni dettagliate a riguardo per la specie felina.

L'impiego di simulazioni al computer basate sui regimi infusionali comunemente impiegati e descritti in letteratura ha permesso di stimare dei possibili target di partenza.

Nell'uomo, i livelli di PPF necessari per l'induzione e il mantenimento dell'anestesia sono variabili e dipendenti dai farmaci somministrati contemporaneamente, dallo stato di salute del paziente e dal tipo di procedura per cui è richiesta l'anestesia (Dixon et al, 1990; Hiraoka et al, 2003; Hans et al, 2010).

Struys et al. (1998) hanno dimostrato una significativa riduzione del target di PPF necessario per l'intubazione, in pazienti premedicati con diazepam, e Chaudhri e colleghi (1992) hanno riportato che in 90% dei pazienti premedicati con temazepan, un'altra benzodiazepina, è stato possibile intubare a concentrazioni di propofol di 5 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Un effetto paragonabile è stato dimostrato anche per gli oppioidi usati in premedicazione o in coinduzione (Kazama et al, 1998).

Analogamente, studi condotti nel cane hanno dimostrato che un ampio numero di farmaci ed anestetici comunemente impiegati in premedicazione, ha capacità, più o meno spiccate, di ridurre la dose di induzione con PPF (Short e Bufalari, 1999; Geel, 1991; Bufalari et al, 1996; Stegmann e Bester, 2001; Sano et al, 2003; GomezVillamandos et al, 2005, 2006; Braun et al, 2007).

Ilkiw e Pascoe (2003) hanno determinato la minima velocità di infusione (MIR_{50}) del PPF nel gatto, necessaria per attenuare il riflesso palpebrale, il riflesso di deglutizione, il pizzicamento della falange, la stimolazione tetanica ed il pizzicamento della coda. L'aggiunta di ketamina in infusione continua è risultata ridurre significativamente la MIR_{50} del PPF.

Correia et al. (1996) hanno dimostrato che concentrazioni plasmatiche comprese tra 2,98 e 7,1 $\mu\text{g ml}^{-1}$ sono in grado di abolire la reazione all'incisione della cute nella pecora, durante infusione di PPF, dopo premedicazione con acepromazina e papavereto. In cani premedicati allo stesso modo e sottoposti a chirurgia simile, Nolan e Reid (1993) hanno osservato che la concentrazione plasmatica di PPF necessaria per sopprimere la risposta chirurgica era compresa tra 3.5 e 5.8 $\mu\text{g ml}^{-1}$.

Nella specie umana, è ampiamente documentata una variabilità di PK e PD inter-individuale in grado di influenzare pesantemente l'intervallo di concentrazioni plasmatiche di PPF necessarie per l'induzione e il mantenimento dell'anestesia. Variabilità inter-individuale per il PPF è descritta anche nel cane (Nolan e Reid, 1993), oltre ad ampia variabilità inter-raziale (Robertson et al, 1992; Zoran et al, 1993; Court et al, 1999; Hay-Kraus et al, 2000; Beths et al, 2001).

Tuttavia, la pratica clinica nei pazienti umani ha dimostrato che nonostante l'ampia variabilità inter-individuale della farmacocinetica e della farmacodinamica, con i sistemi TCI è possibile ottenere un'anestesia efficace e sicura, essendo con tali sistemi, molto semplice la regolazione della profondità di anestesia desiderata (Struys et al, 1997; Russell, 1998; Li et al, 2005).

3.1.1. Valutazione della performance di un sistema TCI

La valutazione della *performance* predittiva di un sistema TCI è effettuata comparando le concentrazioni di PPF previste dal sistema in esame con quelle misurate in campioni di sangue arterioso o venoso, prelevati in diversi momenti

durante l'anestesia e a concentrazioni *target* differenti, secondo il metodo descritto da Varvel e colleghi nel 1992.

Questo approccio è stato ampiamente utilizzato da diversi autori in medicina umana (Coetzee et al, 1995; Vuyk et al, 1995; Short et al, 1996; Glen, 1998; Oei-Lim et al, 1998; Swinhoe et al, 1998; Slepchenko et al, 2003; Li et al, 2005; Ko et al, 2007; White et al, 2008) e in ambito veterinario (Beths et al, 2001; Levionnois et al, 2010). Il metodo si basa sul calcolo dell'errore di predizione percentuale (PE), calcolato come la differenza tra i valori misurati e predetti espressa in percentuale del valore predetto. Utilizzando i valori di PE% derivati da ogni prelievo, vengono calcolati un numero di indici di *performance*, in ogni singolo individuo. L'errore mediano di predizione (MDPE%), fornisce una misura della deviazione per poter indicare se le concentrazioni misurate siano sistematicamente al di sotto o al di sopra dei valori previsti. L'errore di predizione mediano assoluto (MDAPE%) misura l'inaccuratezza e dà informazioni sulla misura tipica della differenza tra concentrazioni misurate e previste. Altri due indici sono l'oscillazione (*wobble*) e la divergenza, che riflettono entrambe le modificazioni in relazione al tempo. L'oscillazione misura la variabilità intra-individuale totale dell'errore di predizione. La divergenza descrive tutte le variazioni sistematiche, nel tempo, delle concentrazioni misurate, verso e lontano dal *target*. Un valore positivo indica un aumento nel tempo, del divario tra concentrazione misurata e predetta, mentre un valore negativo indica che le concentrazioni misurate convergono verso i valori predetti. Nonostante non siano riportati valori di riferimento per divergenza e *wobble*, è stato suggerito che la prestazione di un sistema TCI sia considerata clinicamente accettata, per valori di deviazione (MDPE%) che non siano superiori a $\pm 10-20\%$ e di inaccuratezza (MDAPE%) compresa tra 15% e 40% (Glass et al, 1991; Swinhoe et al, 1998; Beths et al, 2001; Egan, 2003; Li et al, 2005).

3.2. OBIETTIVO DEL LAVORO

Lo scopo di questo studio è stato quello di sviluppare un sistema TCI per la somministrazione di propofol nel gatto utilizzando i parametri farmacocinetici ottenuti in uno studio precedente (vedi 0) e di verificare le prestazioni del sistema, al fine di validarne l'uso nell'ambito di una *performance* clinicamente accettabile.

3.3. MATERIALI E METODI

3.3.1. Soggetti sperimentali

Questo studio ha ricevuto il parere favorevole da parte del Comitato Etico di Ateneo per la Sperimentazione Animale (CEASA) della Facoltà di Veterinaria, Università di Padova (Protocollo numero 69011, 9 Dicembre 2009. Progetto 57/2009).

Sono stati utilizzati tredici gatti domestici di razza europea (n=9), interi, di età compresa tra 0,5 e 5 anni (media 1,8 ±1,5) afferenti al Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie dell'Università di Padova per essere sottoposti a routinaria chirurgia di gonadectomia. Essi erano clinicamente sani e classificati ASA⁴ 1, dopo accurata visita clinica; è stato richiesto il consenso informato scritto del proprietario riguardo la procedura chirurgica e l'inclusione nel progetto sperimentale. Sono stati utilizzati come criteri di esclusione: anamnesi di precedenti anestesilogici avversi, di recente anestesia con propofol, gravidanza in corso, malattie epatiche, renali, respiratorie, cardiache, alterazioni ematobiochimiche, età inferiore a sei mesi, peso inferiore ai 2,5 kg o stato di denutrizione/cachessia.

I soggetti hanno osservato un digiuno a partire dalle 12 ore precedenti l'intervento, mentre l'acqua è stata lasciata a disposizione fino al momento della premedicazione.

3.3.2. Sistema TCI impiegato

Il sistema di infusione utilizzato si componeva di un computer con microprocessore Intel[®] Atom[™] Inside[™], con software *Computer Control Infusion Pump* (CCIP) Ver 2.0E, disponibile in rete (<http://www.cuhk.edu.hk/med/ans/software.htm>), in ambiente Windows XP, e una pompa per siringhe Graseby 3500[®] collegata tramite cavo seriale RS-232. Sulla base del lavoro di farmacocinetica del PPF nel gatto, descritto nel 0, sono stati inseriti nel software i parametri farmacocinetici raccolti in Tabella 8.

⁴ È la classificazione, accettata internazionalmente, della American Society of Anesthesiologists, che permette una categorizzazione dei pazienti in funzione della presenza o meno di alterazioni organiche o funzionali dell'organismo al momento del trattamento chirurgico ed anestesilogico. Si distinguono 5 Classi che definiscono livelli crescenti di rischio a partire dalla Classe I fino alla Classe V.

Tabella 8: Set di parametri farmacocinetici utilizzati dal sistema TCI

V1 (L/kg)	1,14472
K10 (1/min)	0,04
K12 (1/min)	0,27
K13 (1/min)	0,05
K21 (1/min)	0,40
K31 (1/min)	0,02
A	0,410807
B	0,350339
Γ	0,11243
α	0,709923
β	0,0629122
γ	0,0071648

Figura 14. Sistema di infusione TCI impiegato.



3.3.3. Protocollo anestesiológico

I gatti sono stati premedicati con 0,01 mg kg⁻¹ di medetomidina (Sedator[®], A.T.I.-Italia), 0,30 mg kg⁻¹ di metadone (Eptadone[®], Molteni Farmaceutici-Italia) e 2,0 mg kg⁻¹ di ketamina (Ketavet 100[®], Intervet-Italia), in una singola iniezione, per via intramuscolare.

Si è proceduto quindi al posizionamento di un catetere venoso periferico da 22G (Delta ven[®], Delta Med, Italy) in vena cefalica e ad incannulare la vena giugulare controlaterale con un catetere da 20G (Delta ven[®], Delta Med, Italy); entrambi gli accessi venosi sono stati assicurati e protetti con un bendaggio.

Al fine di utilizzare il sistema TCI, prima di iniziare la procedura, sono stati inseriti nel software l'età e il peso in kg dell'animale, di cui solo il secondo è un parametro utilizzato dal modello ai fini predittivi.

Prima dell'induzione in tutti i soggetti è stata avviata un'infusione di Ringer Lattato alla velocità di 5 ml kg⁻¹ ora⁻¹.

L'induzione è stata effettuata con propofol (Propovet[®], Esteve, Italia), attraverso l'accesso periferico in vena cefalica, utilizzando il sistema TCI descritto (Paragrafo 3.3.2.). Il PPF impiegato è stato diluito con soluzione glucosata al 5% per raggiungere una concentrazione della soluzione allo 0,5% di PPF; è riportato, infatti, che l'uso di PPF diluito, riducendo la dose residua circolante, diminuisca gli effetti collaterali e in particolare, l'insorgenza di ipotensione (Kazama et al, 2000). È raccomandato dalla ditta produttrice l'utilizzo di glucosio 5% in acqua per la diluizione del PPF; la concentrazione della soluzione finale non dovrebbe essere inferiore a 2 mg ml⁻¹, poiché, altrimenti, verrebbero alterate le caratteristiche dell'emulsione, provocando un comportamento imprevedibile del farmaco (Glowaski e Wetmore, 1991). La diluizione del PPF con glucosio 5% in acqua può aumentare l'incidenza di dolore all'iniezione, essendo dimostrato che quest'ultimo è associato alla concentrazione della parte libera in soluzione acquosa dell'emulsione (Klement e Arndt, 1991).

Il target plasmatico di induzione, non esistendo valori di riferimento per la concentrazione plasmatica di intubazione nel gatto, è stato calcolato sulla base di simulazioni effettuate con il software *CCIP*, a partire dalle dosi pubblicate per l'induzione nel gatto (Taboada e Murison, 2010; Bley et al, 2007; Pascoe et al, 2006;

Matthews et al, 2004; Dzikiti et al, 2007) e il set di parametri farmacocinetici impiegati (Tabella 8). Nel gatto n. 1 è stato utilizzato un target di $4 \mu\text{g ml}^{-1}$, successivamente, è sempre stato impiegato come target la concentrazione di $2 \mu\text{g ml}^{-1}$, tranne in due gatti (n. 4 e 7), in cui è stato impostato come target $2,5 \mu\text{g ml}^{-1}$.

L'*end point* per l'induzione dell'anestesia è stato considerato come la perdita del riflesso di raddrizzamento e la possibilità di intubare senza movimenti della bocca, resistenza o reazione tussigena. Qualora l'obiettivo non fosse raggiunto, dopo tre tentativi consecutivi a distanza di 30 secondi uno dall'altro, il target è stato aumentato di $0,5 \mu\text{g ml}^{-1}$ per per volta, fino ad ottenere l'intubazione.

I pazienti, dopo nebulizzazione della laringe con lidocaina[®] (Fort Dodge Animal Health s.p.a. Italia) diluita allo 0,5%, sono stati intubati e connessi ad un sistema respiratorio tipo Ayres T-piece (modificato secondo Jackson Rees) (Intersurgical[®] Complete Respiratory Systems), respirando ossigeno 100%, con flusso pari a circa tre volte il volume minuto dell'animale. L'anestesia è stata, quindi, mantenuta con TCI di PPF. Il target plasmatico di mantenimento è stato inizialmente mantenuto pari a quello di intubazione e, in seguito, è stato regolato a intervalli di $0,5 \mu\text{g ml}^{-1}$, in base alla risposta clinica dell'animale, in modo da mantenere un adeguato piano anestetico. La profondità dell'anestesia è stata valutata soggettivamente evocando il riflesso palpebrale, osservando la posizione dell'occhio, la frequenza cardiaca e respiratoria e la pressione arteriosa. I criteri per distinguere un piano anestetico inadeguato sono stati: improvvisa tachicardia $>20\%$ della frequenza cardiaca iniziale, improvvisa tachipnea $>20\%$ della frequenza respiratoria iniziale, incremento della pressione arteriosa al di sopra di 20 mmHg rispetto a quella iniziale, risposte somatiche, quali deglutizione, riflesso palpebrale evidente e movimenti somatici. Segni di eccessiva profondità dell'anestesia sono stati considerati una pressione arteriosa inferiore a 80 mmHg, frequenza cardiaca <80 bpm e apnea per più di 30 secondi. Qualora si verificasse apnea, i gatti venivano ventilati a 12 bpm fino al recupero della funzionalità spontanea.

I gatti, durante la procedura, sono stati riscaldati tramite materassino ad aria calda Bair Hugger[®] 505. Nelle femmine è stata iniettata lidocaina[®] (Fort Dodge Animal Health s.p.a. Italia) nella linea alba, in corrispondenza del sito di incisione, e nel peduncolo ovarico, lasciando agire l'anestetico per circa 5 minuti. Nei maschi, lo

stesso anestetico locale è stato infiltrato SC sul rafe mediano ed intratesticolare. In entrambi i casi la dose totale è stata calcolata in modo da non superare i 4 mg kg^{-1} .

Nel periodo perianestetico è stato monitorato costantemente l'ECG a tre derivazioni (Datex Ohmeda S/5, GE Healthcare Italia), sono stati, inoltre, monitorati e registrati ogni 5 minuti la pressione arteriosa indiretta tramite metodo doppler (Vetex[®] Uni UV900, Huntleigh Healthcare Ltd) dall'arto anteriore, saturazione di ossigeno (SpO_2), frequenza cardiaca (HR), frequenza respiratoria (RR) e CO_2 espirata (Datex Ohmeda S/5, GE Healthcare Italia).

I dati relativi alla variazione delle concentrazioni target nei compartimenti centrale, a rapida distribuzione e a lenta redistribuzione, alla velocità di infusione, al farmaco totale somministrato (secondo previsione del software) e realmente infuso (feedback dalla pompa), registrati ogni 5 secondi, hanno generato automaticamente un foglio Excel di riepilogo.

Al termine dell'intervento i gatti hanno ricevuto $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$ di Metacam[®] (Boehringer Ingelheim Italia) e nelle quattro ore successive, è stato somministrato metadone (Eptadone[®], Molteni Farmaceutici-Italia) a dosaggio compreso tra $0,1$ e $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$ IM, qualora si evidenziassero segni di dolorabilità, valutati dal personale medico, con le modalità routinariamente impiegate e basate sull'osservazione di manifestazioni comportamentali e sulla palpazione diretta.

Il tempo di estubazione è stato registrato come il tempo intercorso tra la fine dell'infusione e il momento in cui la stimolazione della lingua o della faringe hanno evocato il riflesso di deglutizione.

Per ogni soggetto sono stati registrati il volume di PPF infuso fino al momento dell'intubazione tracheale, il tempo di intubazione dall'inizio dell'infusione, il tempo di infusione totale e il volume totale infuso e sono state calcolate la dose di induzione sulla base del peso dell'animale e la quantità somministrata fino all'intubazione e la velocità media di infusione in base al peso, la dose totale somministrata al netto di quella di induzione ed il tempo totale di infusione al netto del tempo di induzione.

3.3.4. Raccolta dei campioni di sangue

Sono stati raccolti campioni ematici (1,0-1,5 ml) per la determinazione delle concentrazioni di PPF, subito prima dell'induzione, a 2 e 7 minuti dall'intubazione, a

2 e 7 minuti dopo ogni cambio di target, alla fine dell'infusione, all'estubazione e 7 minuti dopo. Per i prelievi è stato utilizzato l'accesso venoso giugulare. Al fine di garantire un prelievo non contaminato dal contenuto dello spazio morto del catetere venoso, sono stati aspirati 1,5 ml di sangue in soluzione eparinata (10 UI L^{-1}), prima di procedere al campionamento effettivo e, subito dopo, reintegrati insieme ad una pari quantità di Ringer Lattato, così da mantenere il volume circolante. I campioni, posti in provette sterili sottovuoto BD Vacutainer[®] con K_2EDTA (7,2 mg), sono stati mantenuti refrigerati a $+4^\circ\text{C}$ e, al termine della raccolta di tutti i prelievi, stoccati a -80°C .

3.3.5. Determinazione delle concentrazioni di propofol

I campioni di sangue intero, stoccati a -80°C , sono stati analizzati entro 2 settimane dalla raccolta, con analisi HPLC, tramite metodo di rilevamento fluorimetrico.

La metodica di analisi del propofol è descritta in modo approfondito nel Capitolo 2.2.4 a pagina 63. È stata allestita sulla base della metodica pubblicata da Plummer nel 1987 e di seguito adattata e validata nel laboratorio di Farmacologia del Dipartimento di Scienze e Tecnologie Veterinarie per la Sicurezza Alimentare dell'Università di Milano.

Per la fase analitica è stato utilizzato, come composto di riferimento per l'allestimento delle rette standard, propofol (2,6-diisopropilfenol) fornito dalla ditta Sigma Aldrich (Italia).

Considerando che il propofol è significativamente associato agli elementi corpuscolati del sangue, per la metodica analitica sono preferibili campioni di sangue intero. Le concentrazioni di propofol sono state quantificate cromatograficamente (HPLC). L'estrazione del propofol è stata eseguita a partire dal sangue intero, sia per l'allestimento delle rette di riferimento, che per l'analisi dei campioni provenienti dagli animali trattati con il farmaco. Il residuo secco, dopo estrazione è stato ripreso con $200 \mu\text{l}$ di fase mobile e circa $100 \mu\text{l}$ trasferiti in *vials* per HPLC.

La soluzione madre di propofol utilizzata per l'allestimento delle rette di riferimento è stata preparata sciogliendo il propofol in metanolo (1 mg ml^{-1}). Dalla soluzione madre, mediante diluizioni seriali in fase mobile, sono state allestite concentrazioni di propofol pari a 5, 1, 0.5, 0.1, 0.05 e $0.01 \mu\text{g ml}^{-1}$.

Le rette di riferimento in sangue intero sono state ottenute fortificando sangue di gatto privo di farmaci o comunque di molecole in grado di interferire con l'analisi cromatografica in programma. Le concentrazioni utilizzate sono state le stesse riportate in precedenza relativamente alla preparazione delle rette di riferimento in fase mobile. Per l'allestimento della retta di calibrazione sono stati utilizzati sull'asse delle x le concentrazioni del composto e sull'asse delle y le aree dello stesso. La retta è stata calcolata secondo l'equazione:

$$y = mx.$$

Il metodo analitico per la quantificazione del propofol, in campioni di sangue di gatto, è stato validato all'interno del laboratorio per specificità, linearità, precisione ed accuratezza.

3.3.6. Analisi dei dati

Le concentrazioni target sono state annotate al momento di ogni prelievo ematico. I dati sono stati registrati dal sistema TCI ogni 5 secondi, oltre che annotati su una cartella. I dati relativi ad ogni animale sono stati riversati su un foglio di lavoro Microsoft Excel 97.

La valutazione della *performance* predittiva del sistema TCI è effettuata comparando le concentrazioni di PPF previste dal sistema in esame con quelle misurate in campioni di sangue venoso, prelevati in diversi momenti durante l'anestesia e a concentrazioni *target* differenti, secondo il metodo descritto da Varvel e colleghi nel 1992.

Questo metodo si basa sul calcolo dell'errore di predizione percentuale (PE), calcolato come la differenza tra i valori misurati e predetti espressa in percentuale del valore predetto:

$$PE_{ij} = \frac{Cm_{ij} - Cp_{ij}}{Cp_{ij}} \times 100$$

dove Cp_{ij} è la j -esima previsione della concentrazione plasmatica nel i -esimo paziente, e Cm_{ij} la j -esima misurazione della concentrazione plasmatica nel i -esimo paziente.

Utilizzando i valori di PE% derivati da ogni prelievo, sono stati calcolati i diversi indici di *performance*, in ogni singolo individuo. L'errore mediano di predizione (MDPE%), che fornisce una misura della deviazione, è ottenuto come segue:

$$MDPE_i = \text{mediana}\{PE_{ij}, j = 1, \dots, N_i\}$$

dove N_i è il numero di errori di predizione nell'individuo i . L'errore di predizione mediano assoluto (MDAPE%), che misura l'inaccuratezza e dà informazioni sulla misura tipica della differenza tra concentrazioni misurate e previste, è calcolato come:

$$MDAPE_i = \text{mediana}\{|PE_{ij}|, j = 1, \dots, N_i\}$$

Altri due indici sono l'oscillazione (*wobble*) e la divergenza, che riflettono entrambe le modificazioni in relazione al tempo:

$$WOBBLE_i = \text{deviazione mediana assoluta di} \\ \{PE_{ij}, j = 1, \dots, N_i\} \text{ rispetto a } MDPE_i$$

dove $MDPE_i$ è l'errore di predizione medio nel soggetto i .

$$DIVERGENZA_i = 60 \times \frac{\sum_{j=1}^{N_i} |PE_{ij}| \times t_{ij} - \left(\sum_{j=1}^{N_i} |PE_{ij}|\right) \times \left(\sum_{j=1}^{N_i} t_{ij}\right) / N_i}{\sum_{j=1}^{N_i} (t_{ij})^2 - \left(\sum_{j=1}^{N_i} t_{ij}\right)^2 / N_i}$$

Nonostante non siano riportati valori di riferimento per divergenza e *wobble*, è stato suggerito che la prestazione di un sistema TCI sia considerata clinicamente accettata, per valori di deviazione (MDPE%) che non siano superiori a ± 10 -20% e di inaccuratezza (MDAPE%) compresa tra 15% e 40% (Shuttler, 1988; Glass et al, 1991; Swinhoe et al, 1998; Beths et al, 2001; Egan, 2003; Li et al, 2005).

Per l'intero gruppo sono stati calcolati MDPE% mediana [10°/90° percentile], MDAPE% mediana [10°/90° percentile], divergenza mediana [10°/90° percentile] e *wobble* mediana [10°/90° percentile], per descrivere la prestazione globale del sistema TCI (Varvel et al, 1992; Coetzee et al, 1995).

3.4. RISULTATI

I 9 gatti rientrati nello studio di validazione di un sistema di TCI con propofol, tutti di razza europea, comprendevano 6 maschi e 3 femmine, di età compresa tra 6 e 60 mesi (media 22,11 \pm 11,64) e peso compreso tra 2,60 e 5,25 kg (media 3,86 \pm 0,79) (Tabella 9). I dati relativi ai diversi tempi di infusione totale (media 58,43 \pm 14,02 min), di mantenimento (media 54,89 \pm 13,12 min), di induzione (media 3,51 \pm 1,46 min) ed estubazione (media 18,32 \pm 21,03 min) per i diversi soggetti sono riportati nella Tabella 10.

Tabella 9 Sesso, peso ed età gatti sottoposti ad intervento di gonadectomia, anestetizzati con sistema TCI di propofol.

Gatto	Sesso	Peso (kg)	Età (mesi)
1	M	4,10	24
2	M	4,20	36
3	M	4,40	30
4	F	3,30	12
5	M	3,50	12
6	M	5,25	60
7	M	4,20	6
8	F	2,60	12
9	F	3,15	7
MEDIA		3,86	22,11
DS		0,79	17,64

Tabella 10: Tempi di infusione totale, induzione, mantenimento (tempo totale – tempo di induzione) e estubazione (da fine infusione a risveglio).

gatto	Durata totale infusione (min)	Durata infusione di mantenimento (min)	Durata infusione di induzione (min)	Tempo di estubazione (min)
1	57,83	55,33	2,50	64,17
2	45,08	42,33	2,75	20,58
3	69,33	62,50	6,83	8,67
4	63,67	59,42	4,25	ND
5	35,50	33,17	2,33	13,58
6	81,25	77,08	4,17	11,92
7	56,50	53,08	3,42	7,58
8	58,25	56,17	2,08	1,75
9	ND	ND	3,25	ND
MEDIA	58,43	54,89	3,51	18,32
DS	14,02	13,12	1,46	21,03

Le corrispondenti dosi di PPF di induzione (media $4,81 \pm 1,25$ mg/kg), mantenimento (media $9,94 \pm 3,97$ mg/kg) e la velocità media di mantenimento (media $0,18 \pm 0,06$ mg/kg/min), calcolate per ogni soggetto sono riportate in Tabella 11

La concentrazione plasmatica, misurata con HPLC, nel sangue venoso dei gatti, due minuti dopo l'intubazione è stata in media di $4,92 \pm 2,43$ $\mu\text{g ml}^{-1}$.

La concentrazione plasmatica target media di mantenimento, calcolata come la media dei target impostati durante l'anestesia, da 7 minuti dopo l'induzione alla cessazione dell'infusione, nell'intero gruppo di 9 gatti, è stata pari a $2,33 \pm 0,66$ $\mu\text{g ml}^{-1}$, mentre la concentrazione plasmatica misurata media di mantenimento, la media delle concentrazioni misurate con HPLC, nello stesso periodo temporale, nei 9 gatti, è risultata pari a $4,74 \pm 2,70$ $\mu\text{g ml}^{-1}$.

Tabella 11: Dosi di propofol (mg/kg) di induzione, mantenimento e velocità media dell'infusione di mantenimento (mg/kg/min).

gatto	Dose PPF di induzione (mg/kg)	Dose PPF di mantenimento (mg/kg)	Velocità media infusione PPF di mantenimento (mg/kg/min)
1	7,45	14,57	0,26
2	3,79	5,98	0,14
3	5,04	8,80	0,14
4	5,61	15,69	0,26
5	3,77	4,01	0,12
6	5,62	10,27	0,13
7	4,15	8,73	0,16
8	3,67	11,46	0,20
9	4,21	ND	ND
MEDIA	4,81	9,94	0,18
DS	1,25	3,97	0,06

3.4.1. Valutazione della performance del sistema TCI

Dalla Figura 15 alla Figura 23 sono rappresentate graficamente le infusioni TCI di PPF nei singoli soggetti, con le concentrazioni plasmatiche target previste dal sistema rispetto alle concentrazioni plasmatiche misurate con HPLC.

I valori di MDPE%, MDAPE%, divergenza (%/ora) e wobble per l'intero gruppo di 9 gatti (Tabella 12), riportati come mediana [10 / 90 percentile], sono stati pari a 63,50 [31,24 / 151,93], 63,50 [32,28 / 151,93], -22,77 [-331 / 26,57], 20,32 [9,8 / 43,10], rispettivamente.

Tabella 12: Valori di MDPE, MDAPE, divergenza e wobble calcolati nei 9 gatti sottoposti ad anestesia con un sistema TCI con PPF e loro media, mediana e deviazione standard.

gatto	MDPE(%)	MDAPE(%)	DIVERGENZA (%/ora)	WOBBLE (%)
1	9,64	14,83	-2,55	10,55
2	54,85	54,85	-367,41	36,77
3	36,64	36,64	16,84	6,79
4	82,75	77,29	-22,77	13,00
5	114,62	114,62	-264,37	22,33
6	63,50	63,50	-11,09	19,28
7	254,01	254,01	-322,05	68,40
8	36,64	44,01	-67,52	20,32
9	126,41	126,41	65,49	36,41
media ± ds	86,56 ±73,20	87,35 ±72,01	-108,38 ±163,04	25,98 ±19,06
mediana	63,50	63,50	-22,77	20,32
10 / 90 percentile	31,24 / 151,93	32,28 / 151,93	-331 / 26,57	9,8 / 43,10

Nella Figura 24 è riportato il grafico delle concentrazioni plasmatiche target previste rispetto alle concentrazioni plasmatiche misurate con HPLC; la linea continua rappresenta la *performance* ideale con PE%=0, è possibile osservare una distribuzione dei valori misurati molto asimmetrica e spostata a destra della linea PE%=0, che indica un MDPE% fortemente positivo.

Nella Figura 25 è riportato il grafico del PE% rispetto al tempo nei 9 soggetti: la linea tratteggiata, che indica la regressione lineare e corrisponde alla divergenza del PE%, raffigura graficamente il valore fortemente negativo della stessa.

Figura 15. Soggetto 1. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione di un sistema TCI con PPF.

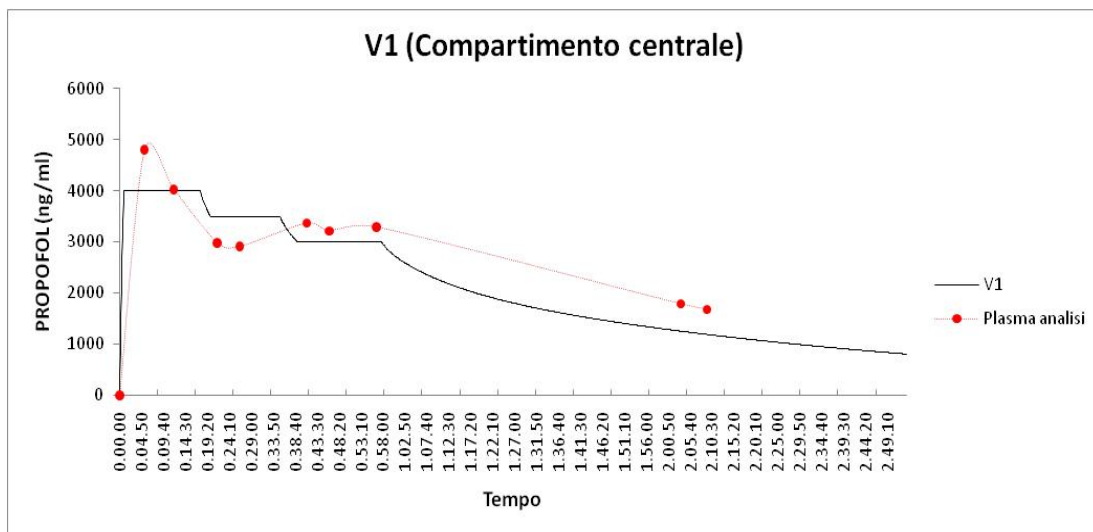


Figura 16. Soggetto 2. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione di un sistema TCI con PPF.

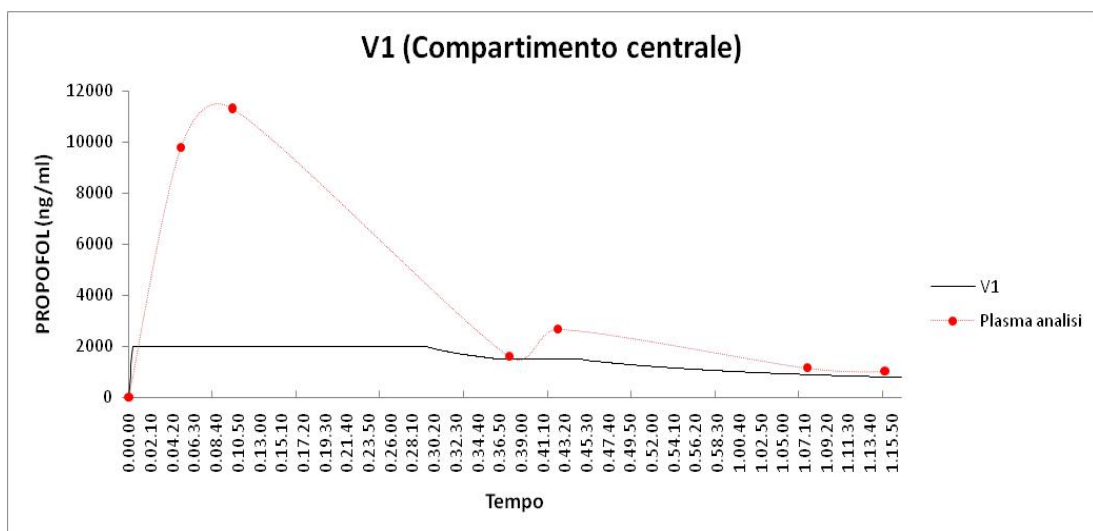


Figura 17. Soggetto 3. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione di un sistema TCI con PPF.

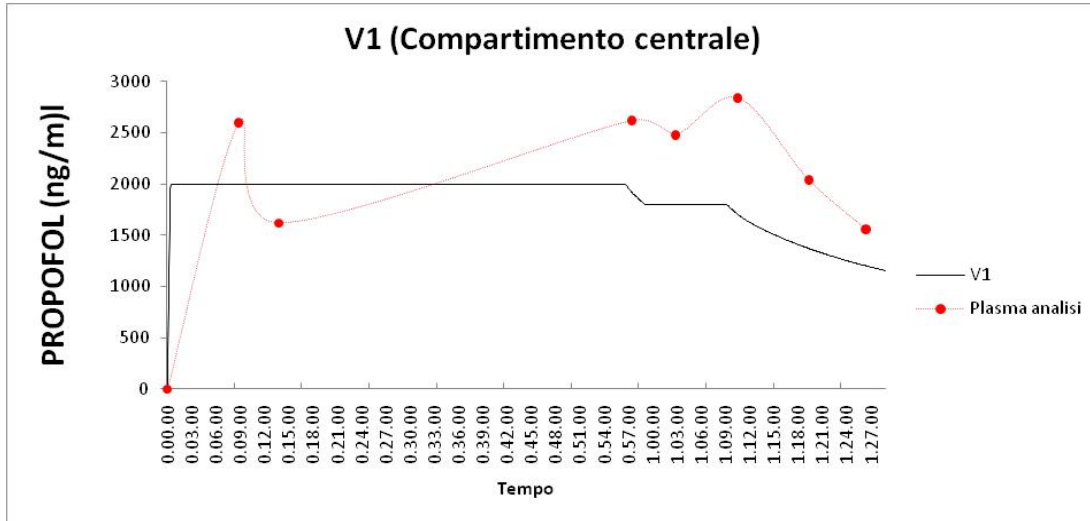


Figura 18. Soggetto 4. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione di un sistema TCI con PPF.

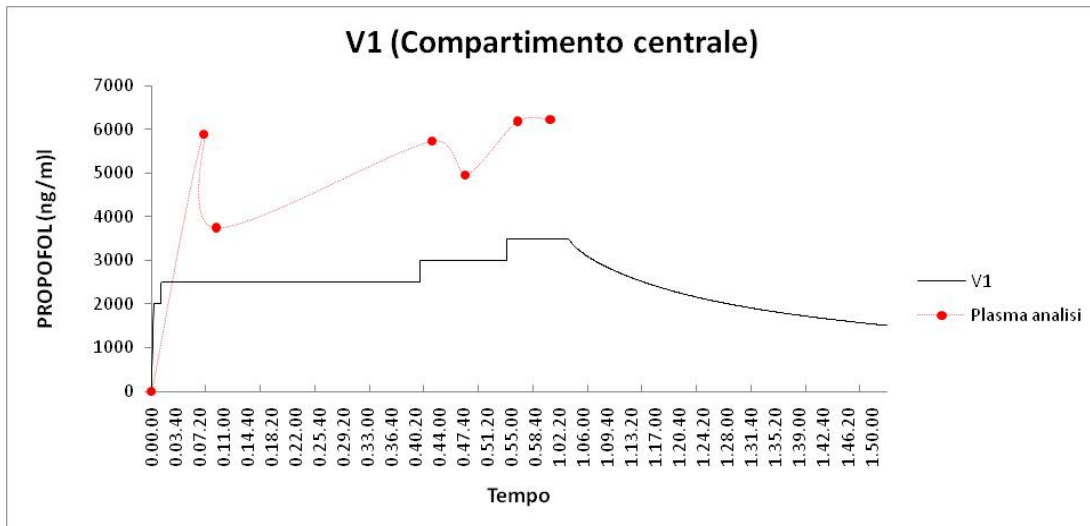


Figura 19. Soggetto 5. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione di un sistema TCI con PPF.

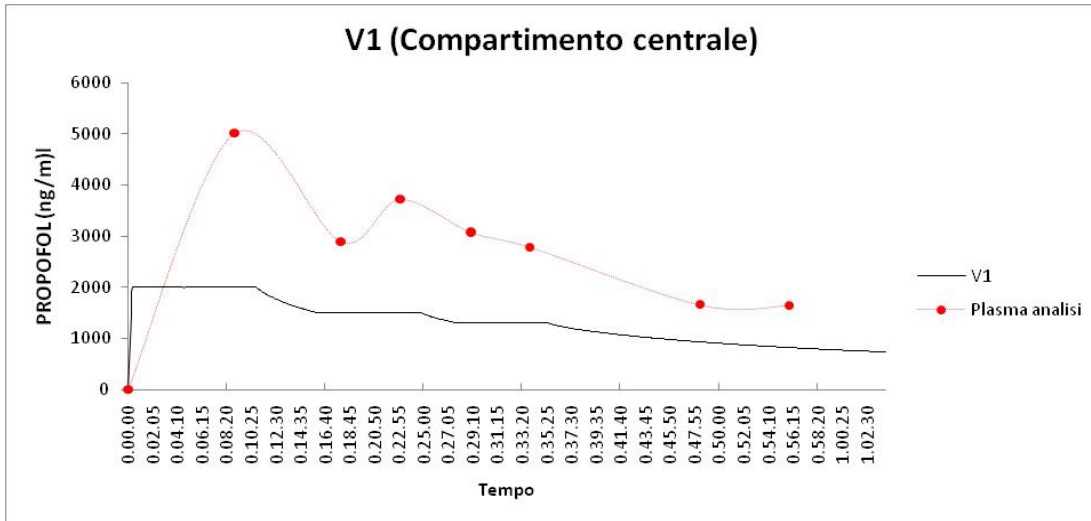


Figura 20. Soggetto 6. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione di un sistema TCI con PPF.

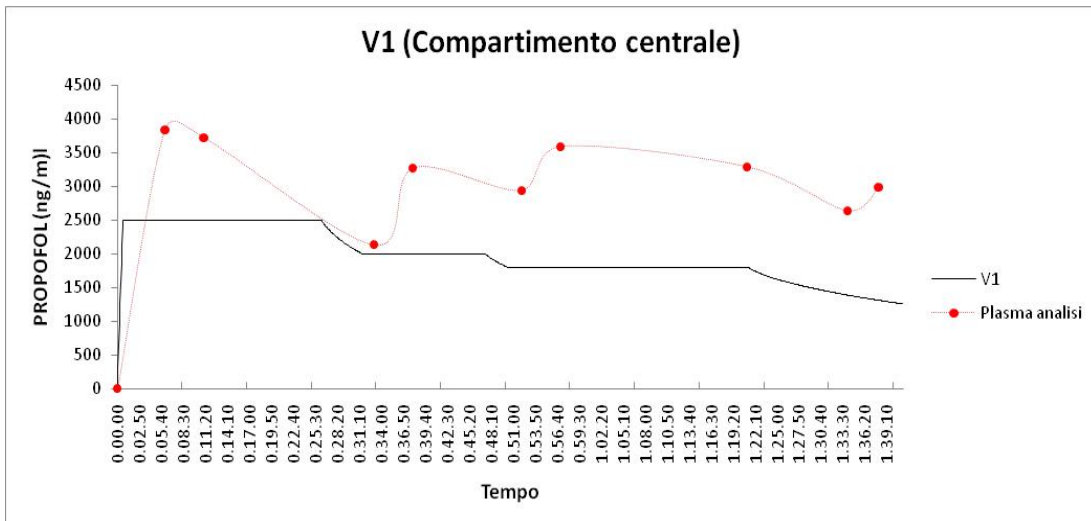


Figura 21. Soggetto 7. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione di un sistema TCI con PPF.

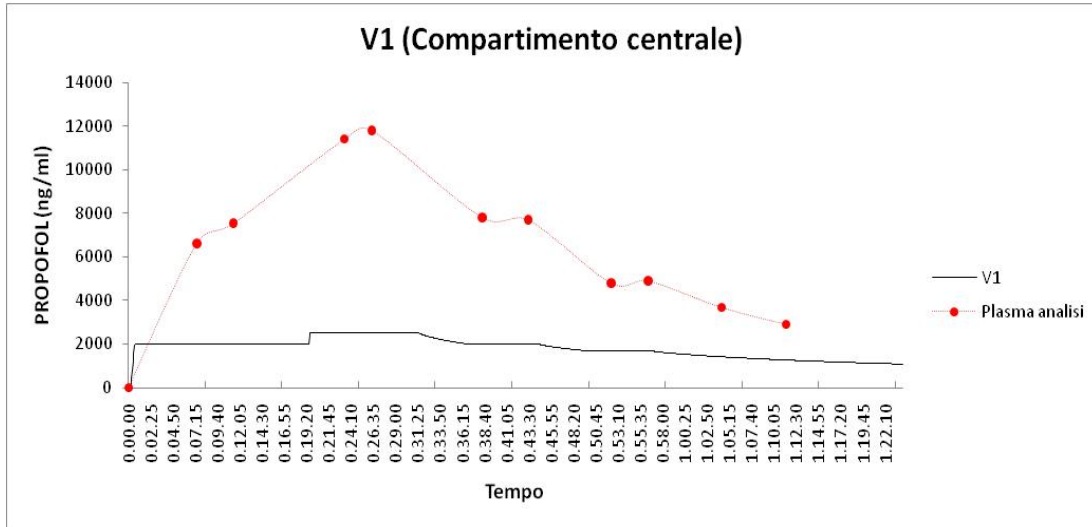


Figura 22. Soggetto 8. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione di un sistema TCI con PPF.

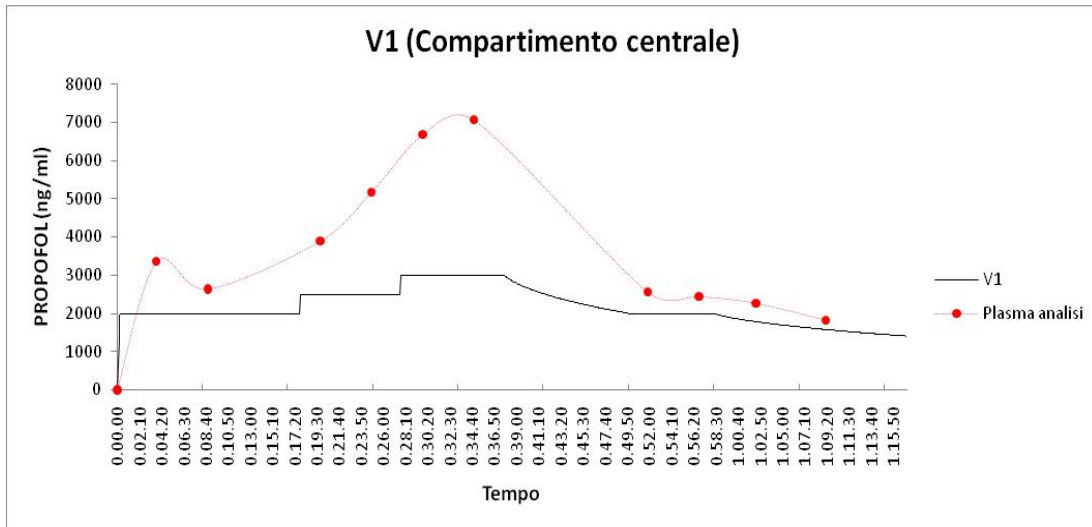


Figura 23. Soggetto 9. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione di un sistema TCI con PPF.

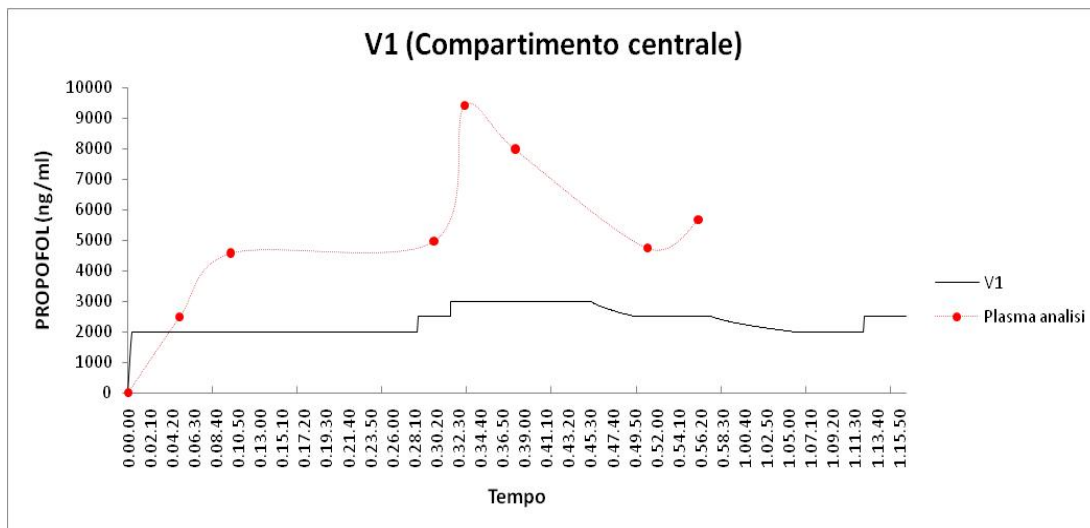


Figura 24. Grafico di dispersione delle concentrazioni plasmatiche target previste rispetto alle concentrazioni plasmatiche misurate con HPLC; la linea continua rappresenta la performance ideale con PE%=0.

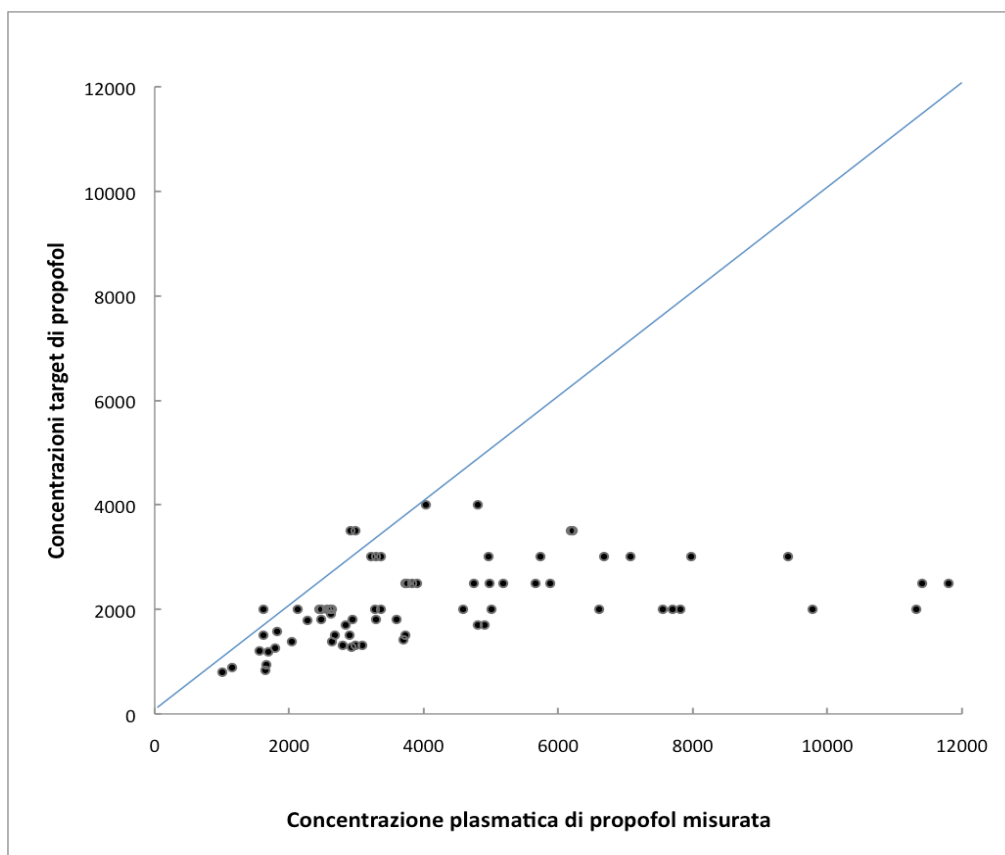
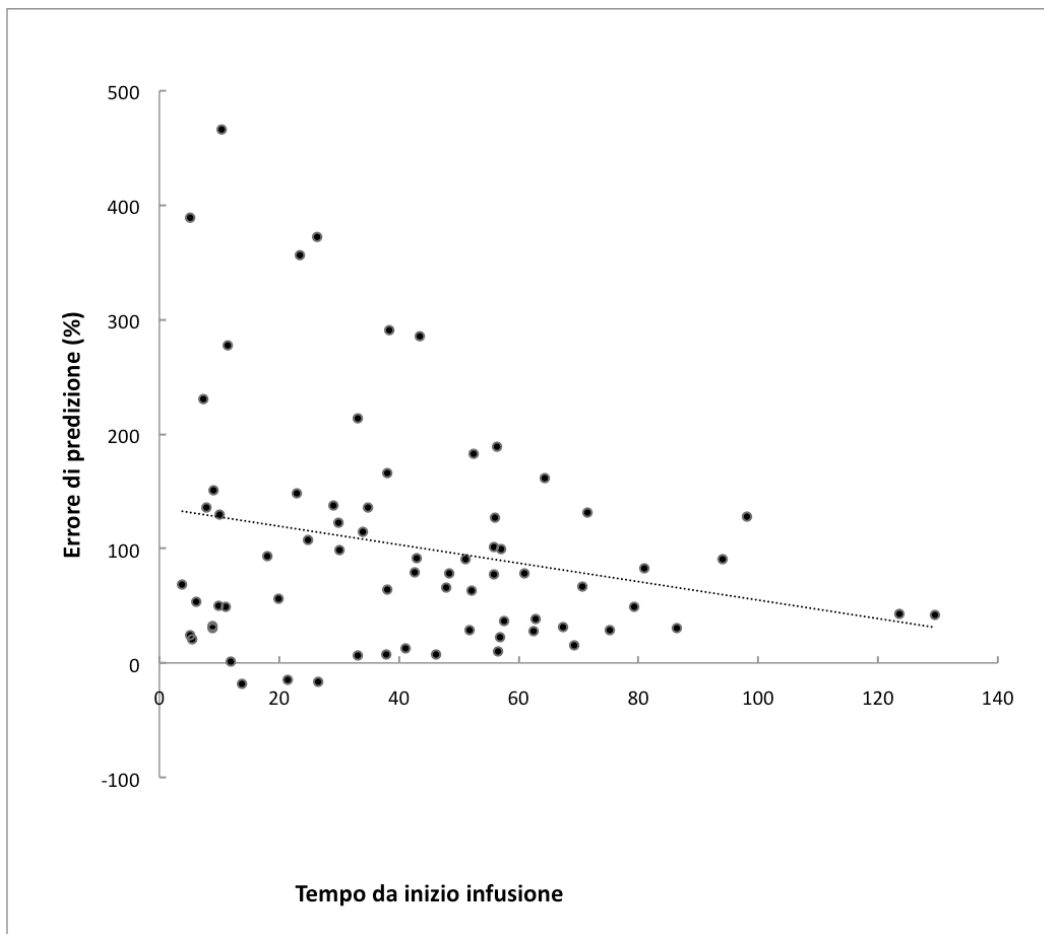


Figura 25. Grafico di dispersione del PE% rispetto al tempo nei 9 gatti sottoposti ad anestesia con un sistema TCI con PPF; la linea tratteggiata indica la regressione lineare e corrisponde alla divergenza del PE%.



3.5. DISCUSSIONE

3.5.1. Induzione dell'anestesia con TCI

La dose media di propofol impiegata per ottenere l'induzione dell'anestesia e riuscire ad intubare la trachea in tutti i soggetti dello studio ($4,81 \pm 1,25 \text{ mg kg}^{-1}$) risulta in linea con le dosi riportate in letteratura per gatti premedicati (Hall et al, 1999).

La dose media necessaria per l'induzione del 50% di gatti non premedicati è riportata essere tra $7,22$ e $7,80 \text{ mg kg}^{-1}$ (Hall et al, 1999; Geel, 1991). Weaver e Raptopoulos (1990), riportano la dose media di $5,3 \pm 4,3 \text{ mg kg}^{-1}$ per gatti premedicati con acepromazina, papavereto, diazepam, petidina, atropina e scopolamina in diverse combinazioni. Taboada e Murison (2010) hanno ottenuto una dose di induzione più alta ($7,5 \pm 2,0 \text{ mg kg}^{-1}$), in gatti premedicati con sola acepromazina e meloxicam; così anche Geel (1991), riporta la dose di $7,1 \pm 0,9 \text{ mg kg}^{-1}$, in gatti premedicati con acepromazina. Tuttavia, è riportata una scarsa capacità dell'acepromazina nel ridurre la dose di anestetico all'induzione nel gatto (Brearley et al, 1988; Geel, 1991). In contrapposizione, Hall e colleghi hanno descritto una riduzione significativa della dose di induzione con PPF, in gatti premedicati con acepromazina e uno dei due oppioidi, butorfanolo o morfina, riportando una dose di induzione pari a 5 mg kg^{-1} ; è probabile, comunque, che la riduzione della dose in tale studio sia legata soprattutto all'uso dell'oppioide. Non esistono valori di riferimento per gatti premedicati con medetomidina, ketamina e metadone usati in combinazione.

La concentrazione plasmatica, misurata con HPLC, nel sangue venoso dei gatti, due minuti dopo l'intubazione è stata in media di $4,92 \pm 2,43 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$. Questa concentrazione è più bassa rispetto a quella riportata nell'uomo ($8,7 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$). La concentrazione raggiunta, probabilmente, rappresenta una sottostima di quella reale di intubazione, essendo stato eseguito il prelievo a due minuti dalla stessa ed essendo stata riscontrata una caduta della concentrazione plasmatica dopo il picco, invece che il mantenimento costante del target. Nel 2001, Beths e colleghi in un lavoro di validazione di un sistema TCI per il PPF nel cane, ha concluso che una concentrazione target di $3 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$ determina una depressione del SNC e dei riflessi autonomici sufficiente per una intubazione agevole e Musk et al (2005) hanno,

successivamente, riportato la concentrazione di $3,5 \mu\text{g ml}^{-1}$ per l'induzione di cani premedicati.

In 5 soggetti su 9 (n. 1, 2, 3, 5, 8) l'intubazione è stata possibile al primo tentativo, nei gatti n. 2 e 3, tuttavia, l'inserimento del tracheotubo ha evocato una espirazione forzata, di entità non valutata tale da richiedere il ripetersi dell'intubazione. Nei restanti 4 soggetti (n. 4, 6, 7, 9) l'intubazione è stata possibile al secondo tentativo, 30 secondi dopo una prima prova fallita. In nessuno dei 9 gatti si sono verificati eventi avversi all'induzione, quali apnea, pedalamento, fascicolazioni o segni di dolore all'iniezione, come descritto occasionalmente in letteratura (Weaver e Raptopoulos, 1990; Morgan e Legge, 1989; Muir e Gadawski, 1998; Sano et al, 2003). Il tempo medio di induzione, calcolato come il tempo intercorso tra l'inizio dell'infusione e la riuscita intubazione, è stato di $3,51 \pm 1,46$ minuti, accettabile e sovrapponibile ai tempi (1-7 minuti) riportati per l'induzione con un sistema TCI nel cane (Beths et al, 2001; Musk Flaherty, 2007).

Alla luce di quanto appena detto, possiamo affermare che la concentrazione plasmatica di $4,92 \mu\text{g ml}^{-1}$ è da considerarsi adeguata come target plasmatico per l'intubazione nel gatto, tuttavia, un target plasmatico superiore avrebbe, probabilmente, permesso un'intubazione più agevole e rapida in tutti i soggetti. L'apnea è considerata uno degli effetti indesiderati più comuni del PPF e la probabilità che essa si manifesti è proporzionale alla dose e alla rapidità della somministrazione; l'impiego di target plasmatici più alti di quello riportato, pur migliorando la qualità dell'induzione, aumenta il rischio di incorrere in questo ed in altri effetti avversi, quali l'ipotensione e la bradicardia (Weaver e Raptopoulos, 1990; Morgan e Legge, 1989; Muir e Gadawski, 1998; Sano et al, 2003; Cleale et al, 2009). Beths e colleghi (2001), nella validazione di un sistema TCI con PPF nel cane, hanno riportato concentrazioni plasmatiche target di intubazione comprese tra 2 e $15 \mu\text{g ml}^{-1}$, ottenendo, con le concentrazioni più alte, un elevato tasso di apnea. Nonostante un'induzione lenta, con target di $3 \mu\text{g ml}^{-1}$, essi non hanno osservato fenomeni di eccitazione, raggiungendo un'induzione calma ed in modo controllato. Musk et al (2005) testando quattro possibili target di induzione sono arrivati alle stesse conclusioni, indicando il target di $3 \mu\text{g ml}^{-1}$ come il più appropriato nel cane in virtù

del basso tasso di eventi avversi a fronte di una percentuale di successo dell'intubazione non significativamente dissimile da target più alti.

La scelta di utilizzare la concentrazione più bassa possibile, compatibilmente con il mantenimento di una buona qualità di induzione, in questo studio, è stata fatta anche alla luce dell'elevato accumulo e della ridotta capacità metabolica in questa specie; basse dosi di induzione e mantenimento nelle fasi iniziali dell'anestesia permettono, infatti, sulla base della farmacocinetica compartimentale da noi ottenuta e descritta nel 0, di ritardare la saturazione dei compartimenti periferici, consentendo tempi di risveglio accettabili anche dopo infusioni protratte.

3.5.2. Mantenimento dell'anestesia con TCI

La concentrazione plasmatica target media di mantenimento, calcolata come la media dei target impostati durante l'anestesia, da 7 minuti dopo l'induzione alla cessazione dell'infusione, nell'intero gruppo di 9 gatti, è stata pari a $2,33 \pm 0,66 \mu\text{g ml}^{-1}$, mentre la concentrazione plasmatica misurata media di mantenimento, la media delle concentrazioni misurate con HPLC, nello stesso periodo temporale, nei 9 gatti, è risultata pari a $4,74 \pm 2,70 \mu\text{g ml}^{-1}$. La marcata differenza tra i due valori rispecchia la sottostima globale del sistema, come sarà approfondito più avanti relativamente alla valutazione della *performance* (Capitolo 3.5.4).

Il valore plasmatico ottenuto si avvicina molto a quello riportato da Beths (2008) per cani mantenuti con PPF in TCI ($4,1 \pm 1 \mu\text{g ml}^{-1}$) e a quelli osservati nell'uomo (Davidson et al, 1993; Taylor et al, 1993). Tuttavia è riportato che le dosi necessarie per per l'induzione e il mantenimento dell'anestesia nel gatto sono più alte rispetto che nel cane e nell'uomo (Scheda tecnica Propovet[®] Intervet/Schering-Plough Animal Health; Sano et al, 2003). In realtà diversi studi riportano, a fronte di dosi d'induzione più alte, regimi di mantenimento più bassi nel gatto che nel cane, spiegabili probabilmente con la scarsa capacità glucuronidativa della specie, con conseguente predisposizione all'accumulo ed al minor consumo di PPF per infusioni protratte (Mendes e Selmi, 2003)

Nella specie umana, è ampiamente documentata una variabilità di PK e PD inter-individuale in grado di influenzare pesantemente l'intervallo di concentrazioni plasmatiche di PPF necessarie per l'induzione e il mantenimento dell'anestesia.

Variabilità inter-individuale per il PPF è descritta anche nel cane (Nolan e Reid, 1993), oltre ad ampia variabilità inter-raziale (Robertson et al, 1992; Zoran et al, 1993; Court et al, 1999; Hay-Kraus et al, 2000; Beths et al, 2001).

La premedicazione ricevuta dai soggetti del presente lavoro può essere responsabile, con tutta probabilità, della diminuzione della concentrazione plasmatica necessaria per il mantenimento. Pur non essendo documentato l'effetto dei tre farmaci utilizzati in combinazione (medetomidina, ketamina, metadone), sulla dose di mantenimento nel gatto, ognuno dei tre, singolarmente possiede una spiccata capacità di ridurre la dose di PPF. Ilkiw e Pascoe (2003) hanno determinato la minima velocità di infusione (MIR_{50}) del PPF nel gatto, necessaria per abolire diversi riflessi. L'aggiunta di ketamina in infusione continua è risultata ridurre significativamente la MIR_{50} del PPF. Qualora in premedicazione fossero stati utilizzati altri farmaci con minore effetto sedativo, come benzodiazepine o composti fenotiazinici, è ipotizzabile che le concentrazioni plasmatiche medie di mantenimento sarebbero risultate più alte. Nell'uomo e negli altri animali, i livelli di PPF necessari per l'induzione e il mantenimento dell'anestesia sono, infatti, variabili e dipendenti dai farmaci somministrati contemporaneamente, dallo stato di salute del paziente e dal tipo di procedura per cui è richiesta l'anestesia (Dixon et al, 1990; Hiraoka et al, 2003; Hans et al, 2010; Geel, 1991; Bufalari et al, 1998).

Nel presente studio la velocità media di infusione di mantenimento è stata di $0,18 \pm 0,06 \text{ mg kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ (Tabella 11), leggermente più bassa di quella ($0,2-0,5 \text{ mg kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$) riportata nel il gatto, per infusioni controllate manualmente (Mendes e Selmi, 2003; Flecknell, 2009).

L'economicità in termini di PPF consumato del sistema TCI nel gatto, è in contrasto con quanto descritto nell'uomo, in cui è stato appurato un consumo superiore da parte dei sistemi TCI (Russell et al, 1995; Struys et al, 1997; Servin, 1998), ma è coerente con i dati ottenuti da Beths (2009) nel cane. I nostri risultati sono sensibilmente influenzati dallo schema infusionale piuttosto rigido, imposto dal disegno sperimentale, in cui la libertà dell'anestesista di variare i target plasmatici in funzione della risposta clinica era limitata. Anche la ridotta esperienza dell'operatore nei confronti di un sistema nuovo, sembra essere stata un fattore significativo nella regolazione dell'infusione con TCI, rispetto a quanto sarebbe risultato con

l'infusione manuale. Uno studio nell'uomo, in cui era comparata TCI con infusione controllata manualmente (MCI), da parte di anestesisti con esperienza, ha mostrato un consumo maggiore nel gruppo TCI (Breslin et al, 2004), mentre non si sono verificate differenze significative per anestesisti con scarsa esperienza (Rehberg et al, 2007).

3.5.3. Arresto dell'infusione ed estubazione

I dati relativi all'estubazione sono disponibili per 7 soggetti su 9, poiché i soggetti n.4 e 9 sono stati convertiti da TCI con PPF ad un mantenimento in isoflurano negli ultimi minuti di anestesia a causa di un malfunzionamento del computer di comando. In questi gatti il tempo medio di estubazione è stato pari a $18,32 \pm 21,32$. L'elevata deviazione standard del dato è da imputare ad una variabilità marcata nei tempi di risveglio ed in particolare al risveglio particolarmente protratto nel soggetto n.1 (64,17 min). Osservando le dosi di infusione (Tabella 11) è evidente che in questo gatto la dose media di mantenimento è stata particolarmente elevata, rispetto alla media; la predisposizione all'accumulo del farmaco, con regimi di infusione elevati e tempi prolungati, è descritta nel gatto (Pascoe et al, 2006; Zonca, 2010), oltre che essere stata da noi prevista, sulla base dei risultati farmacocinetici ottenuti (Capitolo 2). Abbiamo, inoltre, osservato una sensibile diminuzione progressiva dei tempi di risveglio progredendo dal primo verso l'ultimo caso; la curva di apprendimento dell'operatore nei confronti del sistema TCI sembra avere un peso palpabile sulla modalità con cui vengono gestiti i target plasmatici di mantenimento, come osservato e approfondito nel paragrafo precedente, e il dato è supportato da studi sulla TCI nell'uomo e nel cane (Breslin et al, 2004; Rehberg et al, 2007; Beths, 2009).

La concentrazione plasmatica media di estubazione, di $2,18 \pm 0,82 \mu\text{g ml}^{-1}$, non si discosta dai valori riportati da Beths ($1,94 \pm 0,5 \mu\text{g ml}^{-1}$) in cani anestetizzati con TCI di propofol per procedure odontostomatologiche, e da Reid e Nolan ($2,3 \mu\text{g ml}^{-1}$) in cani di razza beagle anestetizzati con MCI di propofol (Reid e Nolan, 1993; Beths, 2009).

3.5.4. Valutazione della performance predittiva del sistema TCI

Una differenza tra le concentrazioni plasmatiche di PPF misurate con HPLC e quelle previste da parte del sistema TCI dall'elaborazione del modello farmacocinetico è

inevitabile e una variabilità nell'accuratezza predittiva, nei soggetti di questo lavoro, è facilmente osservabile confrontando la Figura 15 e la Figura 21, relative alla migliore e alla peggiore *performance*, rispettivamente.

L'errore predittivo è, sostanzialmente, legato alle differenze tra i parametri PK utilizzati per programmare il sistema e i valori individuali di distribuzione, eliminazione e clearance. I modelli farmacocinetici lineari compartimentali, inoltre, non sono che una mera semplificazione matematica del complesso sistema che è l'organismo animale. I modelli con ricircolo sono sicuramente più precisi nel descrivere, ad esempio, il primo periodo di rimescolamento; questi sono un compromesso tra i modelli compartimentali e quelli fisiologici, i quali incorporano numerosi sottosistemi farmacocinetici. I modelli con ricircolo sono in grado di fornire una struttura concettuale semplice per l'importante relazione tra la gittata cardiaca, la velocità di iniezione in bolo e le concentrazioni di farmaco iniziali, che mancano nei modelli compartimentali (Reekers et al, 2003). Simili modelli sono molto complessi, nello sviluppo e nell'applicazione alla TCI, ma la loro introduzione in TCI ha permesso di migliorare notevolmente le prestazioni dei sistemi (Masui et al, 2010). Il modello farmacocinetico sviluppato da Schuttler (2000), ad esempio, pur rimanendo compartimentale, comprende dei fattori di correzione delle costanti, come l'età, il peso, il tipo di campionamento (venoso vs arterioso) e l'impiego nella predizione di concentrazioni di un bolo o di un'infusione. Il modello Upton (Upton et al, 2005) è il primo modello farmacocinetico fisiologico con ricircolo impiegato e validato per la TCI in medicina umana; le sue *performance* sono significativamente superiori a quelle dei modelli compartimentali (Masui et al, 2010).

Una importante fonte di variabilità è, inoltre, associata alle variazioni di PK derivate dai cambiamenti emodinamici intraoperatori, legati all'atto chirurgico e al rilascio di catecolamine, come già osservato e discusso nel 0.

Al fine di valutare la *performance* delle pompe infusionali controllate da computer, Varvel et al. (1992) hanno descritto un metodo statisticamente corretto e univoco di interpretare i dati. Essi hanno riportato l'impiego di due indici quantitativi e di due indici qualitativi dell'errore predittivo. I primi sono MDPE% e MDPA%, una misura della deviazione e una misura dell'inaccuratezza, rispettivamente. Una deviazione (MDPE%) negativa indica che i valori misurati sono al di sotto di quanto previsto dal

sistema TCI e una deviazione positiva è associata a misurazioni più alte della previsione. Gli indici qualitativi sono la divergenza e la wobble (oscillazione), che indicano, rispettivamente, l'andamento nel tempo dell'errore predittivo e il grado di oscillazione dell'errore intorno al MDAPE%, ovvero, la variabilità intra-individuale totale dell'errore di predizione. I risultati degli indici di popolazione sono riportati come mediana [10 / 90 percentile].

La tendenza dell'intero gruppo è stata verso una deviazione positiva molto significativa (MDPE = 63,50 [31,24 / 151,93]) con ampia variabilità all'interno del gruppo. Come è possibile osservare graficamente nelle Figure da 14 a 22 e dai dati riportati in Tabella 12, il sistema testato ha costantemente sottostimato le concentrazioni plasmatiche, tanto più nelle fasi di rapido incremento, quando il sistema ha somministrato un bolo per raggiungere un target plasmatico superiore. Questo non è stato un riscontro inatteso, ma, come già anticipato nella discussione dei dati di cinetica ottenuti nello studio preliminare (Capitolo 2.4), è un possibile reperto, associato all'utilizzo, nella programmazione del sistema, di una cinetica ottenuta dalla curva di declino del PPF dopo singolo bolo endovenoso. Poiché, infatti, i modelli tri-compartmentali basati sul singolo bolo rapido non sono, spesso, accurati nella stima di V_1 , i sistemi TCI che integrano tali modelli tendono a sottostimare le concentrazioni target. A tal fine, per lo sviluppo di sistemi TCI, i modelli farmacocinetici ottenuti dopo breve infusione risultano avere una prestazione superiore (Avram e Krejcie, 2003). Viceversa, modelli compartmentali basati su cinetica infusione tendono a sovrastimare le concentrazioni raggiunte dopo un bolo rapido. Il modello farmacocinetico fisiologico con ricircolo sviluppato da Upton e Ludbrook (2005) si è rivelato l'unico, nel confronto con i tre modelli maggiormente in uso per l'uomo (Marsh, Schnider e Shuttler) capace di ottenere MDAPE% soddisfacente nella previsione di un bolo, rimanendo comunque in un range di valori molto elevati per l'applicazione alla breve infusione (79.8 [36.5 / 100.0]) (Masui et al, 2010).

La quasi completa sovrapposizione dei valori di MDAPE% e MDPE%, è indicativa, ancora una volta, di una infusione la cui previsione è stata sottostimata fortemente in ogni suo punto e in ogni soggetto. La Figura 24 illustra graficamente quanto appena detto in modo molto chiaro; pressochè la totalità dei valori di PE misurati si trova

nella parte sinistra del grafico. È evidente, pertanto, che il valore del volume di distribuzione allo steady state, ottenuto dalla farmacocinetica a bolo singolo ($3318,58 \pm 1130,24 \text{ ml kg}^{-1}$) e ancor più, il volume del compartimento centrale V_1 ($1144,72 \pm 618,86 \text{ ml kg}^{-1}$) sono, nel gatto, più alti che nella cinetica infusione. Questo determina un difetto di guadagno del sistema nei confronti della concentrazione reale. Il valore di MDAPE che abbiamo riscontrato è stato di 63,50% [32,28 / 151,93]. Il dato indica un grado di inaccuratezza predittiva globale alto ed è influenzato drasticamente da valori di $|PE|\%$ molto elevati, soprattutto al momento dell'induzione e delle prime fasi di mantenimento. Il valore negativo della divergenza (-22,77 [-331 / 26,57]), infatti indica un miglioramento significativo della prestazione del sistema nel tempo. La regressione lineare dell'errore di predizione rispetto al tempo è rappresentata dalla linea tratteggiata, nel grafico in Figura 25 e corrisponde alla divergenza. Uno studio comparativo su tre modelli compartimentali e uno fisiologico con ricircolo, ha riportato valori di MDAPE% simili a quelli da noi riscontrati, nella performance su bolo e su breve infusione con modello Marsh, 64,4 [55,4 / 73,4] e 97,6 [55,1–100,0] rispettivamente (Masui et al, 2010).

La wobble da noi calcolata sull'intero gruppo è stata di 20,32 [9,8 / 43,10] e indica che i valori di PE% oscillano intorno al valore di MDPE, mediamente del 20,32%.

Nonostante non siano riportati valori di riferimento per divergenza e *wobble*, è stato suggerito che la prestazione di un sistema TCI sia considerata clinicamente accettabile, per valori di deviazione (MDPE%) che non siano superiori a ± 10 -20% e di inaccuratezza (MDAPE%) compresa tra 15% e 40% (Glass et al, 1991; Swinhoe et al, 1998; Beths et al, 2001; Egan, 2003; Li et al, 2005).

I risultati di deviazione e inaccuratezza da noi ottenuti non rientrano nei range riportati per la validazione e, nonostante il sistema sia stato agevolmente utilizzabile, senza complicazioni, non può essere considerato clinicamente accettabile. Il fatto che l'anestesia sia stata comunque portata a termine con risultati soddisfacenti nella totalità dei soggetti è spiegabile con il fatto che i target plasmatici erano calibrati in base alla risposta clinica degli animali, in modo da mantenere un adeguato livello di anestesia. I limiti che erano stati fissati per l'intervento sul sistema, in caso di scadimento dei parametri emodinamici e clinici degli animali, hanno fatto sì che, nonostante una scadente capacità predittiva, i valori plasmatici effettivi, rimanessero

sempre entro un intervallo clinicamente ottimale. La pratica clinica nei pazienti umani ha dimostrato che nonostante l'ampia variabilità inter-individuale della farmacocinetica e della farmacodinamica, con i sistemi TCI è possibile ottenere un'anestesia efficace e sicura, essendo con tali sistemi, molto semplice la regolazione della profondità di anestesia desiderata (Struys et al, 1997; Russell, 1998; Li et al, 2005).

3.6. CONCLUSIONI

Alla luce dei risultati ottenuti, possiamo concludere che il sistema TCI attuale necessita di un sostanziale miglioramento, al fine di validare le sue prestazioni in ambito clinico. L'introduzione di un fattore di correzione per il parametro del modello farmacocinetico V_1 e per le costanti di ridistribuzione K_{12} , K_{21} , K_{13} , K_{31} , nonché per la costante di eliminazione K_{10} , è necessario, per ottimizzare il sistema TCI.

Il presente lavoro ha permesso di approfondire le conoscenze relative alle concentrazioni target di intubazione e risveglio nel gatto, fornendo dei valori medi di riferimento che potranno essere impiegati nelle fasi successive di sviluppo del sistema stesso.

La curva di apprendimento per l'impiego del nuovo sistema TCI è risultata un fattore importante nella capacità di regolare correttamente la profondità dell'anestesia, con ripercussioni evidenti sulla dose totale infusa e sui tempi di estubazione. La confidenza acquisita nei confronti del sistema potrebbe permettere, in una fase successiva, di ridurre la variabilità dei risultati associata a questo fattore.

CAPITOLO 4.

MIGLIORAMENTO E VALIDAZIONE CLINICA DI UN SISTEMA TCI PER IL PROPOFOL NEL GATTO

4.1. INTRODUZIONE

Il concetto di infusione controllata a target (TCI) è stato descritto nei Paragrafi 1.2.3, 1.2.4 e 1.2.4.

Al fine di ottenere una *performance* clinicamente accettabile del sistema è necessario utilizzare un set di parametri PK in grado di fornire una accurata descrizione della distribuzione e dell'eliminazione del farmaco nella specie studiata.

La quasi totale assenza di dati sperimentali riguardanti la farmacocinetica del PPF in questa specie, ha richiesto lo sviluppo preliminare di un modello farmacocinetico di tipo tri-compartimentale per il gatto, come descritto nel 0 di questa tesi.

I parametri PK ottenuti, sono stati utilizzati nello sviluppo di un sistema di TCI prototipo (0), per programmare il software di comando della pompa infusoriale. Il sistema prototipo è stato valutato nella capacità di prevedere le corrette concentrazioni plasmatiche e nella possibilità di impiego clinico per l'induzione e il mantenimento dell'anestesia nel gatto. I risultati di performance predittiva non hanno soddisfatto gli obiettivi prefissati di accuratezza e deviazione, pur mettendo in risalto una discreta maneggevolezza e capacità di mantenere l'anestesia con concentrazioni plasmatiche misurate clinicamente accettabili. Non esistendo in letteratura valori di riferimento, nel gatto, per le concentrazioni plasmatiche di intubazione, mantenimento ed estubazione, i dati raccolti nel precedente lavoro sono di grande utilità nel progetto di sviluppo di un sistema TCI e per altri lavori riguardanti l'uso del PPF nel gatto.

Nel presente Capitolo verrà descritto il lavoro di ottimizzazione del sistema TCI prototipo, attraverso lo sviluppo di un nuovo sistema, basato su un set di parametri farmacocinetici derivati dal primo dopo l'aggiunta di un fattore di correzione.

In modo analogo, Beths e colleghi (2001) hanno descritto lo sviluppo e l'ottimizzazione di un sistema TCI per il PPF nel cane; in quel lavoro i parametri farmacocinetici finali da inserire nel sistema sono stati derivati, per successive modificazioni empiriche basate su simulazioni al computer, da modelli farmacocinetici del cane pubblicati.

4.2. OBIETTIVO DEL LAVORO

Lo scopo di questo studio è quello di migliorare la performance di un sistema TCI prototipo (TCI-1) per la somministrazione di propofol nel gatto precedentemente sviluppato e sottoposto a valutazione della performance (vedi Capitolo 3). Per tale scopo verrà progettato un set di parametri farmacocinetici, ottenuto per modificazione, con opportuni fattori di correzione, del precedente modello. Lo scopo ultimo è quello di verificare le prestazioni del nuovo sistema (TCI-2.0), confrontandolo con quello di partenza, per accuratezza, deviazione, divergenza e oscillazione, al fine di validarne l'uso nell'ambito di una *performance* clinicamente accettabile.

4.3. MATERIALI E METODI

4.3.1. Soggetti sperimentali

Questo studio ha ricevuto il parere favorevole da parte del Comitato Etico di Ateneo per la Sperimentazione Animale (CEASA) della Facoltà di Veterinaria, Università di Padova (Protocollo numero 69011, 9 Dicembre 2009. Progetto 57/2009).

Sono stati utilizzati sei gatti domestici di razza europea (n=6), interi, quattro femmine e due maschi, di età compresa tra 0,5 e 5 anni (media $1,3 \pm 1,8$) e peso compreso tra 2,8 e 4,1 kg (media $3,4 \pm 0,5$) afferenti al Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie dell'Università di Padova per essere sottoposti a routinaria chirurgia di gonadectomia. Essi erano clinicamente sani e classificati ASA⁵ 1, dopo accurata visita clinica; è stato richiesto il consenso informato scritto del proprietario riguardo la procedura chirurgica e l'inclusione nel progetto sperimentale. Sono stati utilizzati come criteri di esclusione: anamnesi di precedenti anestesilogici avversi, di recente anestesia con propofol, gravidanza in corso, malattie epatiche, renali, respiratorie, cardiache, alterazioni ematobiochimiche, età inferiore a sei mesi, peso inferiore ai 2,5 kg o stato di denutrizione/cachessia.

⁵ È la classificazione, accettata internazionalmente, della American Society of Anesthesiologists, che permette una categorizzazione dei pazienti in funzione della presenza o meno di alterazioni organiche o funzionali dell'organismo al momento del trattamento chirurgico ed anestesilogico. Si distinguono 5 Classi che definiscono livelli crescenti di rischio a partire dalla Classe I fino alla Classe V.

I soggetti hanno osservato un digiuno a partire dalle 12 ore precedenti l'intervento, mentre l'acqua è stata lasciata a disposizione fino al momento della premedicazione.

Ai fini comparativi, sono rientrati nello studio anche nove gatti (n.=9) facenti parte del lavoro precedentemente descritto in questa tesi, al Capitolo 3.

I gatti sono stati suddivisi in gruppo 1 (TCI-1: n.=9) e gruppo 2 (TCI-2.0: n=6)

4.3.2. Determinazione del modello farmacocinetico

La tendenza, nel gruppo di gatti rientrati nello studio del primo sistema TCI (Capitolo 3), è stata verso una deviazione positiva molto significativa (MDPE = 63,50 [31,24 / 151,93]). Come è possibile osservare graficamente nelle Figure da 14 a 22 e dai dati riportati in Tabella 12 del Capitolo 3, il sistema testato ha costantemente sottostimato le concentrazioni plasmatiche, tanto più nelle fasi di rapido incremento, quando il sistema ha somministrato un bolo per raggiungere un target plasmatico superiore. Abbiamo ipotizzato che tale riscontro fosse associato all'utilizzo, nella programmazione del sistema, di una cinetica ottenuta dalla curva di declino del PPF dopo singolo bolo endovenoso.

I modelli tri-compartmentali basati sul singolo bolo rapido non sono, spesso, accurati nella stima di V_1 e i sistemi TCI che integrano tali modelli tendono a sottostimare le concentrazioni target. Viceversa, modelli compartmentali basati su cinetica infusione tendono a sovrastimare le concentrazioni raggiunte dopo un bolo rapido. (Masui et al, 2010).

Le componenti del modello farmacocinetico su cui intervenire sono state soprattutto quelle da cui dipende il guadagno complessivo del sistema (inteso come la caratteristica di determinare concentrazioni plasmatiche globalmente al di sopra o al di sotto di quelle stimate), ovvero il volume del compartimento centrale (V_1). Osservando la Figura 26, relativa all'infusione nel soggetto n.7 del precedente studio, è possibile apprezzare il concetto di guadagno positivo del sistema, appena menzionato: l'andamento delle concentrazioni plasmatiche misurate è sovrapponibile a quello previsto, ma con una forte amplificazione di tutti i valori. Abbiamo osservato inoltre che, specialmente nella prima fase di infusione, dopo un picco plasmatico con forte errore predittivo positivo, generalmente, la concentrazione plasmatica misurata ha subito un decremento (Figura 27), che mette in evidenza,

oltre ad un volume di distribuzione iniziale più ridotto del previsto, anche una diverso comportamento di redistribuzione tra V_1 , V_2 e V_3 .

Figura 26. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V_1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione del sistema TCI-1 sul un soggetto. È evidente un eccessivo guadagno nel sistema, che porta alla sottostima generale dei valori target.

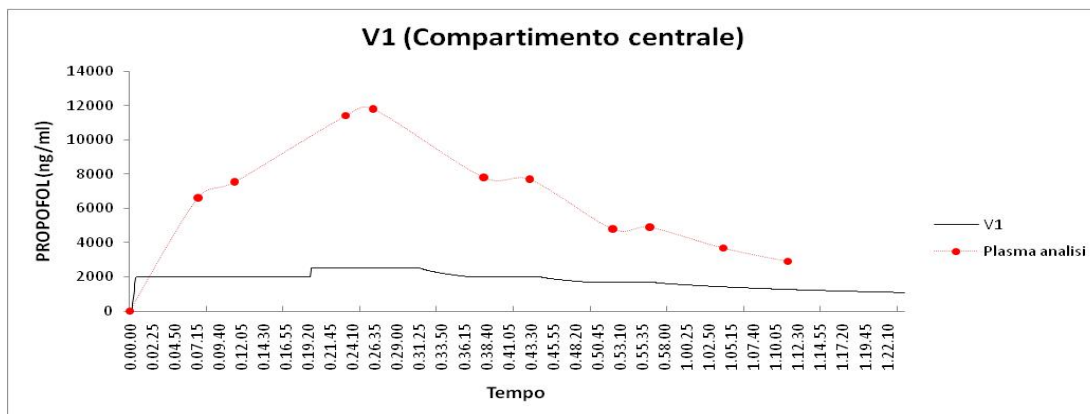
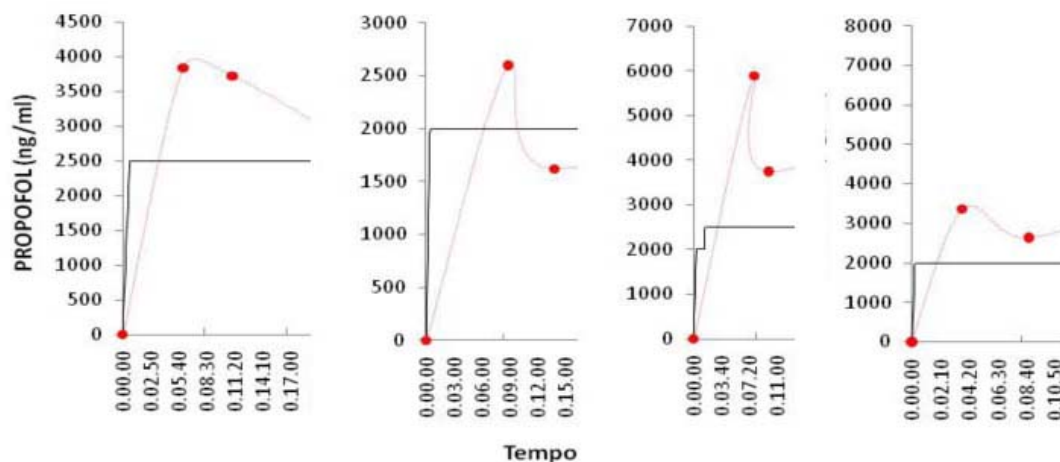


Figura 27. Concentrazioni plasmatiche misurate e stimate (linea continua), nella fase di induzione, durante l'applicazione del sistema TCI-1 in quattro soggetti. Si osservano concentrazioni plasmatiche iniziali sottostimate, con un successivo decremento delle stesse.



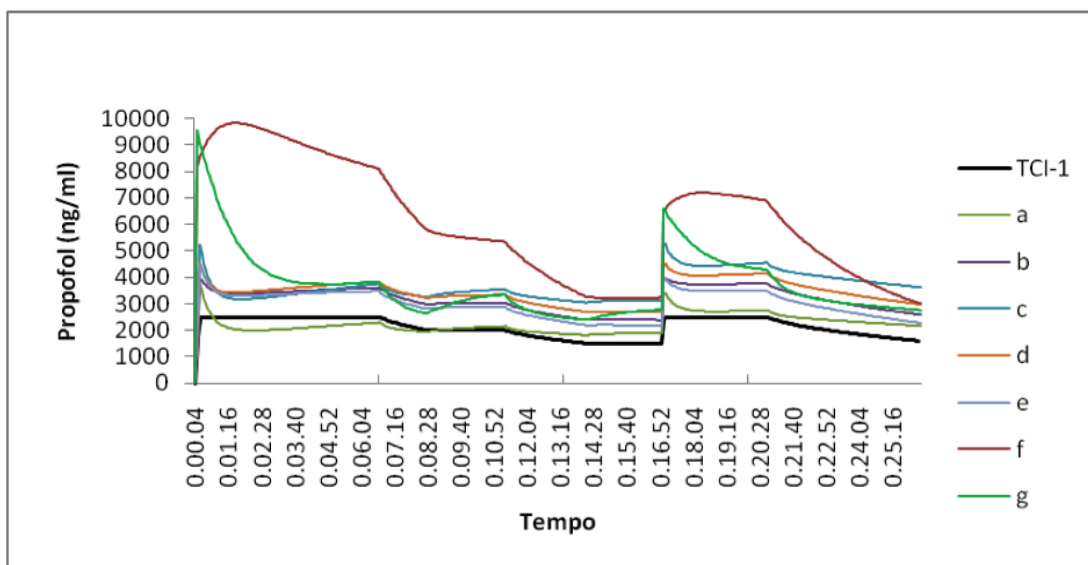
Analogamente alla farmacocinetica di Schuttler e Ihmsen (2000), che integra dei fattori di correzione per adattare la farmacocinetica per l'infusione continua, alla predizione delle concentrazioni plasmatiche dopo singolo bolo, si è cercato mediante

simulazioni al computer di trovare dei fattori correttivi per le variabili farmacocinetiche, che fornissero una curva capace di rappresentare al meglio i dati di concentrazione plasmatica ottenuti dal sistema TCI-1.

Utilizzando una metodica simile a quella utilizzata da Beths (2001) per perfezionare un sistema TCI con PPF nel cane, abbiamo proceduto per tentativi empirici, fino ad ottenere un modello con errori predittivi minimi per tutti i valori di concentrazione misurati nei gatti del gruppo 1.

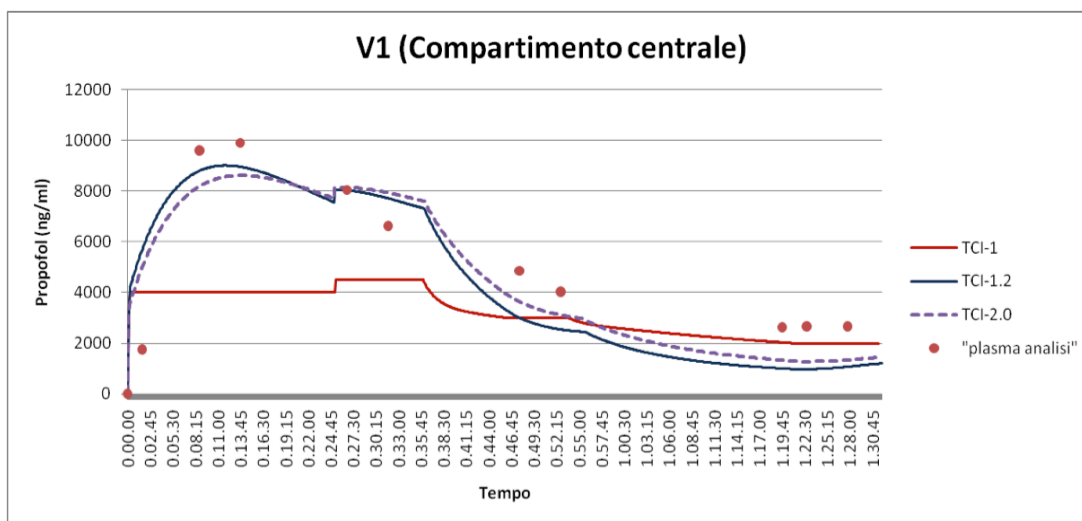
Per la simulazione è stato impiegato il software *Computer Control Infusion Pump* (CCIP) Ver 2.0E, in modalità simulazione. È stata registrata una macro con un regime infusionale creato dal software con il settaggio farmacocinetico originario su un'infusione di 25 minuti con diversi target plasmatici. Quindi, si è proceduto attraverso correzioni graduali dei parametri farmacocinetici a simulare le concentrazioni plasmatiche previste dal software con l'infusione registrata (Figura 28).

Figura 28. Esempio di simulazioni delle concentrazioni previste mantenendo costante il regime infusionale con diversi set farmacocinetici. TCI-1: set originario; **a:** $V_1=700$ ml/kg, $k_{10}=0,04$ min⁻¹, $k_{12}=0,79$ min⁻¹, $k_{13}=0,05$ min⁻¹, $k_{21}=0,24$ min⁻¹, $k_{31}=0,02$ min⁻¹; **b:** $V_1=700$ ml/kg, $k_{10}=0,04$ min⁻¹, $k_{12}=0,45$ min⁻¹, $k_{13}=0,05$ min⁻¹, $k_{21}=0,4$ min⁻¹, $k_{31}=0,02$ min⁻¹; **c:** $V_1=500$ ml/kg $k_{10}=0,04$ min⁻¹, $k_{12}=0,79$ min⁻¹, $k_{13}=0,04$ min⁻¹, $k_{21}=0,3$ min⁻¹, $k_{31}=0,03$ min⁻¹; **d:** $V_1=600$ ml/kg, $k_{10}=0,04$ min⁻¹, $k_{12}=0,60$ min⁻¹, $k_{13}=0,05$ min⁻¹, $k_{21}=0,4$ min⁻¹, $k_{31}=0,02$ min⁻¹; **e:** $V_1=600$ ml/kg, $k_{10}=0,06$ min⁻¹, $k_{12}=0,6$ min⁻¹, $k_{13}=0,05$ min⁻¹, $k_{21}=0,4$ min⁻¹, $k_{31}=0,02$ min⁻¹; **f:** $V_1=350$ ml/kg, $k_{10}=0,04$ min⁻¹, $k_{12}=0,45$ min⁻¹, $k_{13}=0,05$ min⁻¹, $k_{21}=0,4$ min⁻¹, $k_{31}=0,02$ min⁻¹; **g:** $V_1=320$ ml/kg, $k_{10}=0,07$ min⁻¹, $k_{12}=0,1$ min⁻¹, $k_{13}=0,04$ min⁻¹, $k_{21}=0,4$ min⁻¹, $k_{31}=0,01$ min⁻¹.



Si è proceduto, quindi, in modo analogo a testare, tramite simulazione, due set di parametri farmacocinetici ottenuti sui casi dello studio con sistema TCI-1 (Figura 29), ottenendo una farmacocinetica con predizioni situate nella media delle misurazioni plasmatiche, denominata TCI-2.0. Il volume del compartimento centrale è stato notevolmente ridotto (da 1144,72 ml/kg a 350 ml/kg), la costante di eliminazione dal compartimento centrale (k_{10}) è risultata maggiore (da 0,04 a 0,06 min^{-1}), la k_{12} di rapida distribuzione è stata ridotta (da 0,27 a 0,1 min^{-1}), come anche la k_{13} , di lenta distribuzione (da 0,05 a 0,04 min^{-1}), mentre la costante di ritorno dal compartimento profondo, k_{31} , è stata ridotta. I restanti parametri sono rimasti immutati.

Figura 29. Esempio relativo ad una simulazione effettuata con due set farmacocinetici diversi sulla base dello schema infusionale utilizzato dal primo sistema. TCI-1: farmacocinetica originaria; TCI-1.2: $V_1=300 \text{ ml/kg}$, $k_{10}=0,08 \text{ min}^{-1}$, $k_{12}=0,1 \text{ min}^{-1}$, $k_{13}=0,04 \text{ min}^{-1}$, $k_{21}=0,4 \text{ min}^{-1}$, $k_{31}=0,01 \text{ min}^{-1}$; TCI-2.0= $V_1=350 \text{ ml/kg}$, $k_{10}=0,06 \text{ min}^{-1}$, $k_{12}=0,1 \text{ min}^{-1}$, $k_{13}=0,04 \text{ min}^{-1}$, $k_{21}=0,4 \text{ min}^{-1}$, $k_{31}=0,01 \text{ min}^{-1}$.



4.3.3. Sistema TCI-2.0

Il sistema di infusione utilizzato, denominato TCI-2.0, si componeva di un computer con microprocessore Intel® Atom™ Inside™, con software *Computer Control Infusion Pump* (CCIP) Ver 2.0E, disponibile in rete (<http://www.cuhk.edu.hk/med/ans/software.htm>), in ambiente Windows XP, e una pompa per siringhe Graseby 3500® collegata tramite cavo seriale RS-232. Sulla base di simulazioni al computer a

partire dalle concentrazioni plasmatiche misurate nel lavoro precedente (Capitolo 3), sono stati inseriti nel software i parametri farmacocinetici ottenuti e riassunti nella Tabella 13.

Tabella 13: Set di parametri farmacocinetici utilizzati dal sistema TCI modificato (TCI-2.0)

V1 (L/kg)	0,350
K10 (1/min)	0,06
K12 (1/min)	0,1
K13 (1/min)	0,04
K21 (1/min)	0,40
K31 (1/min)	0,01
A	0,791354
B	1,94057
Γ	0,124223
α	0,523822
β	0,0804852
γ	0,00569261

La massima velocità di infusione è stata impostata a 300 ml ora⁻¹, diversamente dal sistema per il cane, sviluppato da Beths (2001) in cui questa è stata lasciata alle impostazioni predefinite dalla ditta produttrice della pompa (1200 ml ora⁻¹). Si è voluto ottenere, infatti, un'induzione più graduale e sicura, anche mediante la diluizione dell'emulsione allo 0,5%. L'utilizzo di soluzioni diluite e di velocità di infusione ridotte è riportato diminuire significativamente l'insorgenza degli effetti collaterali più comuni all'induzione, quali depressione respiratoria e apnea, ipotensione, bradicardia e riduzione della gittata cardiaca (Watkins et al, 1987; Weaver e Raptopoulos, 1990; Quandt et al, 1998; Kazama et al, 2000).

4.3.4. Protocollo anestesilogico

I gatti del gruppo 2 sono stati premedicati con 0,01 mg kg⁻¹ di medetomidina (Sedator[®], A.T.I.-Italia), 0,30 mg kg⁻¹ di metadone (Eptadone[®], Molteni Farmaceutici-Italia) e 2,0 mg kg⁻¹ di ketamina (Ketavet 100[®], Intervet-Italia), in una singola iniezione, per via intramuscolare.

Si è proceduto quindi al posizionamento di un catetere venoso periferico da 22G (Delta ven[®], Delta Med, Italy) in vena cefalica e ad incannulare la vena giugulare controlaterale con un catetere da 20G (Delta ven[®], Delta Med, Italy); entrambi gli accessi venosi sono stati assicurati e protetti con un bendaggio.

Al fine di utilizzare il sistema TCI, prima di iniziare la procedura, sono stati inseriti nel software l'età e il peso in kg dell'animale, di cui solo il secondo è un parametro utilizzato dal modello ai fini predittivi.

Prima dell'induzione in tutti i soggetti è stata avviata un'infusione di Ringer Lattato alla velocità di 5 ml kg⁻¹ ora⁻¹.

L'induzione è stata effettuata con propofol (Propofol[®], Esteve, Italia), attraverso l'accesso periferico in vena cefalica, utilizzando il sistema TCI descritto (Paragrafo 3.3.2.). Il PPF impiegato è stato diluito con soluzione glucosata al 5% per raggiungere una concentrazione della soluzione allo 0,5% di PPF; è riportato, infatti, che l'uso di PPF diluito, riducendo la dose residua circolante, diminuisca gli effetti collaterali e in particolare, l'insorgenza di ipotensione (Kazama et al, 2000). È raccomandato dalla ditta produttrice l'utilizzo di glucosio 5% in acqua per la diluizione del PPF; la concentrazione della soluzione finale non dovrebbe essere inferiore a 2 mg ml⁻¹, poiché, altrimenti, verrebbero alterate le caratteristiche dell'emulsione, provocando un comportamento imprevedibile del farmaco (Glowaski e Wetmore, 1991). La diluizione del PPF con glucosio 5% in acqua può aumentare l'incidenza di dolore all'iniezione, essendo dimostrato che quest'ultimo è associato alla concentrazione della parte libera in soluzione acquosa dell'emulsione (Klement e Arndt, 1991).

Il target plasmatico di induzione è stato scelto sulla base dei risultati dello studio con il sistema prototipo TCI-1. Nei gatti del gruppo 1 la concentrazione plasmatica media di intubazione è stata di 4,81 ±1,25 mg kg⁻¹. La concentrazione raggiunta, probabilmente, rappresenta una sottostima di quella reale di intubazione, essendo stato eseguito il prelievo a due minuti dalla stessa ed essendo stata riscontrata una caduta della concentrazione plasmatica dopo il picco, con la farmacocinetica impiegata (Figura 27). Inoltre, nello stesso lavoro, in due soggetti, l'intubazione al primo tentativo era riuscita, ma era stata definita di scarsa qualità (si era verificata una forte espirazione forzata da parte dell'animale), in quattro soggetti su nove, si era

reso necessario un secondo tentativo, 30 secondi dopo una prima prova fallita. In nessuno dei 9 gatti del gruppo 1 si erano verificati eventi avversi all'induzione, quali apnea, tremori o depressione cardiocircolatoria marcata.

Si è scelto pertanto di aumentare la concentrazione plasmatica di target per l'induzione dell'anestesia, nei soggetti del gruppo 2, nel presente studio.

Nel gatto n. 10 è stato utilizzato un target di $6 \mu\text{g ml}^{-1}$, nel gatto n. 11 e 15 il target è stato incrementato a $7 \mu\text{g ml}^{-1}$, nei restanti (n.12, 13, 14) è sempre stato impiegato come target la concentrazione di $8 \mu\text{g ml}^{-1}$.

L'*end point* per l'induzione dell'anestesia è stato considerato come la perdita del riflesso di raddrizzamento e la possibilità di intubare senza movimenti della bocca, resistenza o reazione tussigena. Qualora l'obiettivo non fosse raggiunto, dopo tre tentativi consecutivi a distanza di 30 secondi uno dall'altro, il target è stato aumentato di $0,5 \mu\text{g ml}^{-1}$ per volta, fino ad ottenere l'intubazione.

I pazienti, dopo nebulizzazione della laringe con lidocaina[®] (Fort Dodge Animal Health s.p.a. Italia) diluita allo 0,5%, sono stati intubati e connessi ad un sistema respiratorio tipo Ayres T-piece (modificato secondo Jackson Rees) (Intersurgical[®] Complete Respiratory Systems), respirando ossigeno 100%, con flusso pari a circa tre volte il volume minuto dell'animale. L'anestesia è stata, quindi, mantenuta con TCI di PPF. Il target plasmatico di mantenimento è stato inizialmente mantenuto pari a quello di intubazione e, in seguito, è stato regolato a intervalli di $0,5 \mu\text{g ml}^{-1}$, in base alla risposta clinica dell'animale, in modo da mantenere un adeguato piano anestetico. Nella prima fase di mantenimento costante del target, dopo l'induzione, appena raggiunta la stabilità emodinamica, sono stati registrati tutti i parametri e considerati come riferimento per la successiva stima del piano anestetico. La profondità dell'anestesia è stata valutata soggettivamente evocando il riflesso palpebrale, osservando la posizione dell'occhio, la frequenza cardiaca e respiratoria e la pressione arteriosa. I criteri per distinguere un piano anestetico inadeguato sono stati: improvvisa tachicardia $>20\%$ della frequenza cardiaca iniziale, improvvisa tachipnea $>20\%$ della frequenza respiratoria iniziale, incremento della pressione arteriosa al di sopra di 20 mmHg rispetto a quella iniziale, risposte somatiche, quali deglutizione, riflesso palpebrale evidente e movimenti somatici. Segni di eccessiva profondità dell'anestesia sono stati considerati una pressione arteriosa inferiore a 80

mmHg, frequenza cardiaca <80 bpm e apnea per più di 30 secondi. Qualora si verificasse apnea, i gatti venivano ventilati a 12 bpm fino al recupero della funzionalità spontanea.

I gatti, durante la procedura, sono stati riscaldati tramite materassino ad aria calda Bair Hugger® 505. Nelle femmine è stata iniettata lidocaina® (Fort Dodge Animal Health s.p.a. Italia) intradermica e sottocutanea lungo la linea alba, in corrispondenza del sito di incisione, e nel peduncolo ovarico, lasciando agire l'anestetico per circa 5 minuti. Nei maschi, lo stesso anestetico locale è stato infiltrato SC sul rafe mediano ed intratesticolare. In entrambi i casi la dose totale è stata calcolata in modo da non superare i 4 mg kg⁻¹.

Nel periodo perianestetico è stato monitorato costantemente l'ECG a tre derivazioni (Datex Ohmeda S/5, GE Healthcare Italia), sono stati, inoltre, monitorati e registrati ogni 5 minuti la pressione arteriosa indiretta tramite metodo doppler (Vettex® Uni UV900, Huntleigh Healthcare Ltd) dall'arto anteriore, saturazione di ossigeno (SpO₂, frequenza cardiaca (HR), frequenza respiratoria (RR) e CO₂ espirata (Datex Ohmeda S/5, GE Healthcare Italia).

I dati relativi alla variazione delle concentrazioni target nei compartimenti centrale, a rapida distribuzione e a lenta redistribuzione, alla velocità di infusione, al farmaco totale somministrato (secondo previsione del software) e realmente infuso (feedback dalla pompa), registrati ogni 5 secondi, hanno generato automaticamente un foglio Excel di riepilogo.

Al termine dell'intervento i gatti hanno ricevuto 0,3 mg kg⁻¹ di Metacam® (Boehringer Ingelheim Italia) e nelle quattro ore successive, è stato somministrato metadone (Eptadone®, Molteni Farmaceutici-Italia) a dosaggio compreso tra 0,1 e 0,3 mg kg⁻¹ IM, qualora si evidenziassero segni di dolorabilità, valutati dal personale medico, con le modalità routinariamente impiegate e basate sull'osservazione di manifestazioni comportamentali e sulla palpazione diretta.

Il tempo di estubazione è stato registrato come il tempo intercorso tra la fine dell'infusione e il moento in cui la stimolazione della lingua o della faringe hanno evocato il riflesso di deglutizione.

Per ogni soggetto sono stati registrati il volume di PPF infuso fino al momento dell'intubazione tracheale, il tempo di intubazione dall'inizio dell'infusione, il tempo

di infusione totale e il volume totale infuso e sono state calcolate la dose di induzione sulla base del peso dell'animale e la quantità somministrata fino all'intubazione e la velocità media di infusione in base al peso, la dose totale somministrata al netto di quella di induzione ed il tempo totale di infusione al netto del tempo di induzione.

4.3.5. Raccolta dei campioni di sangue

Sono stati raccolti campioni ematici (1,0-1,5 ml) per la determinazione delle concentrazioni di PPF, subito prima dell'induzione, a 2 e 7 minuti dall'intubazione, a 2 e 7 minuti dopo ogni cambio di target, alla fine dell'infusione, all'estubazione e 7 minuti dopo. Per i prelievi è stato utilizzato l'accesso venoso giugulare. Al fine di garantire un prelievo non contaminato dal contenuto dello spazio morto del catetere venoso, sono stati aspirati 1,5 ml di sangue in soluzione eparinata (10 UI L⁻¹), prima di procedere al campionamento effettivo e, subito dopo, reintegrati insieme ad una pari quantità di Ringer Lattato, così da mantenere il volume circolante. I campioni, posti in provette sterili sottovuoto BD Vacutainer[®] con K₂EDTA (7,2 mg), sono stati mantenuti refrigerati a +4°C e, al termine della raccolta di tutti i prelievi, stoccati a -80°C.

4.3.6. Determinazione delle concentrazioni di propofol

I campioni di sangue intero, stoccati a -80°C, sono stati analizzati entro 2 settimane dalla raccolta, con analisi HPLC, tramite metodo di rilevamento fluorimetrico.

La metodica di analisi del propofol è descritta in modo approfondito nel Capitolo 2.2.4 a pagina 63. È stata allestita sulla base della metodica pubblicata da Plummer nel 1987 e di seguito adattata e validata nel laboratorio di Farmacologia del Dipartimento di Scienze e Tecnologie Veterinarie per la Sicurezza Alimentare dell'Università di Milano.

Per la fase analitica è stato utilizzato, come composto di riferimento per l'allestimento delle rette standard, propofol (2,6-diisopropilfenol) fornito dalla ditta Sigma Aldrich (Italia).

Considerando che il propofol è significativamente associato agli elementi corpuscolati del sangue, per la metodica analitica sono preferibili campioni di sangue intero. Le concentrazioni di propofol sono state quantificate cromatograficamente (HPLC). L'estrazione del propofol è stata eseguita a partire dal sangue intero, sia per

l'allestimento delle rette di riferimento, che per l'analisi dei campioni provenienti dagli animali trattati con il farmaco. Il residuo secco, dopo estrazione è stato ripreso con 200 µl di fase mobile e circa 100 µl trasferiti in *vials* per HPLC.

La soluzione madre di propofol utilizzata per l'allestimento delle rette di riferimento è stata preparata sciogliendo il propofol in metanolo (1 mg ml⁻¹). Dalla soluzione madre, mediante diluizioni seriali in fase mobile, sono state allestite concentrazioni di propofol pari a 5, 1, 0.5, 0.1, 0.05 e 0.01 µg ml⁻¹.

Le rette di riferimento in sangue intero sono state ottenute fortificando sangue di gatto privo di farmaci o comunque di molecole in grado di interferire con l'analisi cromatografica in programma. Le concentrazioni utilizzate sono state le stesse riportate in precedenza relativamente alla preparazione delle rette di riferimento in fase mobile. Per l'allestimento della retta di calibrazione sono stati utilizzati sull'asse delle x le concentrazioni del composto e sull'asse delle y le aree dello stesso. La retta è stata calcolata secondo l'equazione:

$$y = mx.$$

Il metodo analitico per la quantificazione del propofol, in campioni di sangue di gatto, è stato validato all'interno del laboratorio per specificità, linearità, precisione ed accuratezza.

4.3.7. Analisi statistica dei dati

Le concentrazioni target sono state annotate al momento di ogni prelievo ematico. I dati sono stati registrati dal sistema TCI ogni 5 secondi, oltre che annotati su una cartella. I dati relativi ad ogni animale sono stati riversati su un foglio di lavoro Microsoft Excel 97.

La valutazione della *performance* predittiva del sistema TCI-2.0 è stata effettuata comparando le concentrazioni di PPF previste dal sistema in esame con quelle misurate in campioni di sangue venoso, prelevati in diversi momenti durante l'anestesia e a concentrazioni *target* differenti, secondo il metodo descritto da Varvel e colleghi nel 1992.

Questo metodo si basa sul calcolo dell'errore di predizione percentuale (PE), calcolato come la differenza tra i valori misurati e predetti espressa in percentuale del valore predetto:

$$PE_{ij} = \frac{Cm_{ij} - Cp_{ij}}{Cp_{ij}} \times 100$$

dove Cp_{ij} è la j -esima previsione della concentrazione plasmatica nel i -esimo paziente, e Cm_{ij} la j -esima misurazione della concentrazione plasmatica nel i -esimo paziente.

Utilizzando i valori di PE% derivati da ogni prelievo, sono stati calcolati i diversi indici di *performance*, in ogni singolo individuo. L'errore mediano di predizione (MDPE%), che fornisce una misura della deviazione, è ottenuto come segue:

$$MDPE_i = \text{mediana}\{PE_{ij}, j = 1, \dots, N_i\}$$

dove N_i è il numero di errori di predizione nell'individuo i . L'errore di predizione mediano assoluto (MDAPE%), che misura l'inaccuratezza e dà informazioni sulla misura tipica della differenza tra concentrazioni misurate e previste, è calcolato come:

$$MDAPE_i = \text{mediana}\{|PE_{ij}|, j = 1, \dots, N_i\}$$

Altri due indici sono l'oscillazione (wobble) e la divergenza, che riflettono entrambe le modificazioni in relazione al tempo:

$$WOBBLE_i = \text{deviazione mediana assoluta di} \\ \{PE_{ij}, j = 1, \dots, N_i\} \text{ rispetto a } MDPE_i$$

dove $MDPE_i$ è l'errore di predizione medio nel soggetto i .

$$DIVERGENZA_i = 60 \times \frac{\sum_{j=1}^{N_i} |PE_{ij}| \times t_{ij} - \left(\sum_{j=1}^{N_i} |PE_{ij}|\right) \times \left(\sum_{j=1}^{N_i} t_{ij}\right) / N_i}{\sum_{j=1}^{N_i} (t_{ij})^2 - \left(\sum_{j=1}^{N_i} t_{ij}\right)^2 / N_i}$$

Nonostante non siano riportati valori di riferimento per divergenza e *wobble*, è stato suggerito che la prestazione di un sistema TCI sia considerata clinicamente accettata, per valori di deviazione (MDPE%) che non siano superiori a $\pm 10-20\%$ e di inaccuratezza (MDAPE%) compresa tra 15% e 40% (Shuttler, 1988; Glass et al, 1991; Swinhoe et al, 1998; Beths et al, 2001; Egan, 2003; Li et al, 2005).

Per l'intero gruppo sono stati calcolati MDPE% mediana [10 / 90 percentile], MDAPE% mediana [10 / 90 percentile], divergenza mediana [10 / 90 percentile] e *wobble* mediana [10 / 90 percentile], per descrivere la prestazione globale del sistema TCI-2.0 (Varvel et al, 1992; Coetzee et al, 1995).

I risultati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistica attraverso l'uso del software SIGMA STAT 3.05 mediante l'analisi della varianza (ANOVA) utilizzando la procedura "GLM" per osservazioni ripetute ad una via al fine di valutare l'effetto del gruppo (1: TCI-1 e 2: TCI-2.0) sui parametri controllati.

Sono state scelte come variabili dipendenti: peso, età, tempo di infusione totale, tempo di intubazione, durata di mantenimento, tempo di estubazione, dose di PPF di intubazione, velocità media di infusione totale, dose di PPF di mantenimento, velocità media dell'infusione di mantenimento, MDPE%, MDAPE%, divergenza e *wobble*; come variabili indipendenti: i due gruppi (1: TCI-1 e 2: TCI-2.0).

Un valore di $p < 0,05$ è stato considerato come limite di significatività per la differenza tra i gruppi.

4.4. RISULTATI

I 6 gatti rientrati nello studio di validazione del sistema di TCI-2.0 con propofol, tutti di razza europea, comprendevano 2 maschi e 4 femmine, di età compresa tra 0,5 e 5 anni (media $1,3 \pm 1,8$) e peso compreso tra 2,8 e 4,1 kg (media $3,4 \pm 0,5$) (Tabella 14). I dati relativi ai diversi tempi di infusione totale (media $73,90 \pm 20,29$ min), di mantenimento (media $69,25 \pm 19,93$ min), di induzione (media $4,65 \pm 2,48$ min) ed estubazione (media $8,04 \pm 5,46$ min) per i diversi soggetti sono riportati nella Tabella 15.

Le corrispondenti dosi di PPF di induzione (media $4,16 \pm 0,44$ mg/kg), mantenimento (media $14,30 \pm 4,99$ mg/kg) e la velocità media di mantenimento (media $0,20 \pm 0,04$ mg/kg/min), calcolate per ogni soggetto sono riportate in Tabella 11

La concentrazione plasmatica, misurata con HPLC, nel sangue venoso dei gatti, due minuti dopo l'intubazione è stata in media di $3,23 \pm 0,87$ $\mu\text{g kg}^{-1}$.

La concentrazione plasmatica target media di mantenimento, calcolata come la media dei target impostati nel sistema durante l'anestesia, da 7 minuti dopo l'induzione alla cessazione dell'infusione, nell'intero gruppo di 6 gatti, è stata pari a $6,44 \pm 1,27$ $\mu\text{g ml}^{-1}$, la media delle concentrazioni misurate con HPLC, nello stesso periodo temporale, nei 6 gatti, è risultata pari a $5,56 \pm 2,46$ $\mu\text{g ml}^{-1}$.

Tabella 14: Sesso, peso ed età dei gatti dei due gruppi TCI-1 (n.=9) e TCI-2.0 (n=6), sottoposti ad intervento di gonadectomia, anestetizzati con due sistemi TCI di propofol.
*Differenza statisticamente significativa ($p < 0,05$).

GRUPPO	gatto	Sesso	Peso (kg)	Età (mesi)
1: TCI-1	1	M	4,10	24
	2	M	4,20	36
	3	M	4,40	30
	4	F	3,30	12
	5	M	3,50	12
	6	M	5,25	60
	7	M	4,20	6
	8	F	2,60	12
	9	F	3,15	7
MEDIA			3,86	22,11
DS			0,79	17,64
2: TCI-2.0	10	F	2,80	7
	11	F	3,15	60
	12	M	4,10	8
	13	F	3,15	6
	14	F	3,40	6
	15	M	4,00	6
MEDIA			3,43	15,5
DS			0,52	21,82

Tabella 15: Tempi di infusione totale, induzione, mantenimento (tempo totale – tempo di induzione) e estubazione (da fine infusione a risveglio) dei gatti nei due gruppi TCI-1 (n.=9) e TCI-2.0 (n=6), sottoposti ad intervento di gonadectomia, anestetizzati con due sistemi TCI di propofol. *Differenza statisticamente significativa (p <0,05).

GRUPPO	gatto	Durata totale infusione (min)	Durata infusione di mantenimento (min)	Durata infusione di induzione (min)	Tempo di estubazione (min)	
1: TCI-1	1	57,83	55,33	2,50	64,17	
	2	45,08	42,33	2,75	20,58	
	3	69,33	62,50	6,83	8,67	
	4	63,67	59,42	4,25	ND	
	5	35,50	33,17	2,33	13,58	
	6	81,25	77,08	4,17	11,92	
	7	56,50	53,08	3,42	7,58	
	8	58,25	56,17	2,08	1,75	
	9	ND	ND	3,25	ND	
		MEDIA	58,43	54,89	3,51	18,32
	DS	14,02	13,12	1,46	21,03	
2: TCI-2.0	10	76,83	67,25	9,58	1,67	
	11	85,83	81,50	4,33	11,67	
	12	49,25	45,42	3,83	2,75	
	13	82,00	78,25	3,75	12,75	
	14	99,58	95,75	3,83	5,25	
	15	49,92	47,33	2,58	14,17	
		MEDIA	73,90	69,25	4,65	8,04
		DS	20,29	19,93	2,48	5,46

Tabella 16: Dosi di propofol (mg/kg) di induzione, mantenimento e velocità media dell'infusione di mantenimento (mg/kg/min). dei gatti nei due gruppi TCI-1 (n.=9) e TCI-2.0 (n=6), sottoposti ad intervento di gonadectomia, anestetizzati con due sistemi TCI di propofol. *Differenza statisticamente significativa (p <0,05).

GRUPPO	gatto	Dose PPF di induzione (mg/kg)	Dose PPF di mantenimento (mg/kg)	Velocità media infusione PPF di mantenimento (mg/kg/min)	
1: TCI-1	1	7,45	14,57	0,26	
	2	3,79	5,98	0,14	
	3	5,04	8,80	0,14	
	4	5,61	15,69	0,26	
	5	3,77	4,01	0,12	
	6	5,62	10,27	0,13	
	7	4,15	8,73	0,16	
	8	3,67	11,46	0,20	
	9	4,21	ND	ND	
		MEDIA	4,81	9,94	0,18
	DS	1,25	3,97	0,06	
2: TCI-2.0	10	4,67	12,45	0,19	
	11	3,95	17,69	0,22	
	12	4,25	10,89	0,24	
	13	4,38	18,65	0,24	
	14	4,34	19,20	0,20	
	15	3,40	6,89	0,15	
		MEDIA	4,16	14,30	0,20
		DS	0,44	4,99	0,04

4.4.1. Valutazione della performance del sistema TCI

Dalla Figura 30 alla Figura 35 sono rappresentate graficamente le infusioni TCI di PPF nei singoli soggetti del gruppo 2, con le concentrazioni plasmatiche target previste dal sistema rispetto alle concentrazioni plasmatiche misurate con HPLC.

Tabella 17: Valori di MDPE, MDAPE, divergenza e wobble calcolati nei 9 gatti sottoposti ad anestesia con un sistema TCI con PPF e loro media, mediana e deviazione standard.

*Differenza statisticamente significativa ($p < 0,05$). † Differenza statisticamente significativa escludendo dalla media del gruppo 1 il soggetto n.7, nettamente *outlier* ($p < 0,05$).

GRUPPO	gatto	MDPE(%)	MDAPE(%)	DIVERGENZA (%/ora)	WOBBLE (%)	
1: TCI-1	1	9,64	14,83	-2,55	10,55	
	2	54,85	54,85	-367,41	36,77	
	3	36,64	36,64	16,84	6,79	
	4	82,75	77,29	-22,77	13,00	
	5	114,62	114,62	-264,37	22,33	
	6	63,50	63,50	-11,09	19,28	
	7	254,01	254,01	-322,05	68,40	
	8	36,64	44,01	-67,52	20,32	
	9	126,41	126,41	65,49	36,41	
		media ± ds	86,56* ±73,20	87,35† ±72,01	-108,38 ±163,04	25,98 ±19,06
	mediana	63,50*	63,50†	-22,77	20,32	
	10 / 90 percentile	31,24 / 151,93	32,28 / 151,93	-331 / 26,57	9,8 / 43,10	
2: TCI-2.0	10	-16,56	16,56	-48,92	15,19	
	11	-41,20	41,20	-46,64	15,35	
	12	-29,18	29,18	-51,12	5,80	
	13	12,86	17,14	-31,52	24,26	
	14	36,25	46,67	-12,20	25,76	
	15	25,91	30,15	28,65	22,51	
		media ± ds	-1,98* ±31,46	30,15† ±12,25	-26,96 ±30,93	18,15 ±7,53
		mediana	-1,85*	29,67†	-39,08	18,93
	10 / 90 percentile	-35,19 / 31,08	16,85 / 43,93	-50,02 / 8,23	10,49 / 25,01	

I valori di MDPE%, MDAPE%, divergenza (% /ora) e wobble per l'intero gruppo di 6 gatti (Tabella 17), riportati come mediana [10 / 90 percentile], sono stati pari a -1,85 [-35,19 / 31,08], 29,67 [16,85 / 43,93], -39,08 [-50,02 / 8,23], 18,93 [10,49 / 25,01], rispettivamente. Le curve di predizione ottenute dal sistema TCI-2.0 sono state vicine a quelle relative ai valori di concentrazione plasmatica realmente misurati (da Figura 30 a Figura 35), come evidenziato anche dagli indici di errore calcolati e riportati in Tabella 17. Il valore di MDPE è molto basso, come anche quello di wobble. Il valore di MDAPE è basso e rientra nei range riportati in letteratura per la validità di un sistema TCI in ambito clinico. La differenza di MDPE nei due gruppi è statisticamente significativa ($p < 0,05$), la differenza di MDAPE nei due gruppi acquisisce significatività statistica ($p < 0,05$) escludendo dalla media un soggetto del gruppo 1 (n. 7) che ha riportato valori fortemente al di fuori della distribuzione normale.

Nella Figura 36 è riportato il grafico di dispersione delle concentrazioni plasmatiche target previste rispetto alle concentrazioni plasmatiche misurate con HPLC; la linea continua rappresenta la *performance* ideale con $PE\%=0$, è possibile osservare una distribuzione dei valori misurati più simmetrica che nel gruppo 1, con una leggera tendenza verso il negativo. Questo si traduce in un MDPE dal valore molto basso e negativo, poiché, per lo più, l'errore positivo e quello negativo si annullano. Il dato è meglio illustrato in Figura 37, che rappresenta graficamente il raffronto tra i valori di MDPE, nei due gruppi.

Nella figura 37 sono rappresentati i valori di MDAPE nei soggetti dei due gruppi. L'omogeneità dei valori, oltre che un MDAPE più basso rispetto al gruppo 1, è graficamente apprezzabile.

I valori di divergenza e wobble raffrontati nei due gruppi, infine sono riportati graficamente nelle figure 38 e 39 e numericamente in Tabella 17.

La durata totale dell'anestesia è stata mediamente di 81,94 ($\pm 20,77$) min. Normocapnia, normotensione e normotermia sono state mantenute durante l'anestesia da tutti i gatti. Ogni soggetto ha superato l'anestesia senza eventi avversi.

Figura 30. Soggetto 10. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione del sistema TCI-2.0 con PPF.

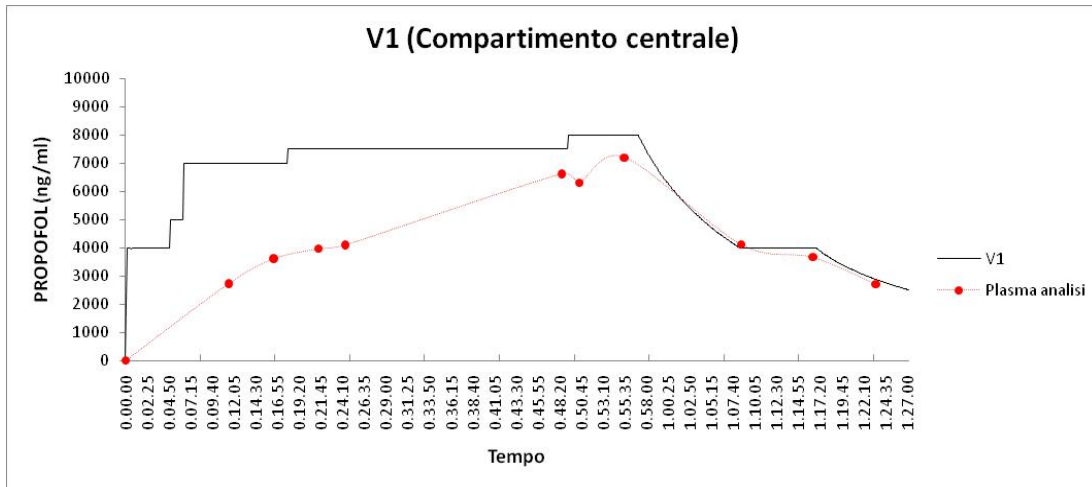


Figura 31. Soggetto 11. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione del sistema TCI-2.0 con PPF.

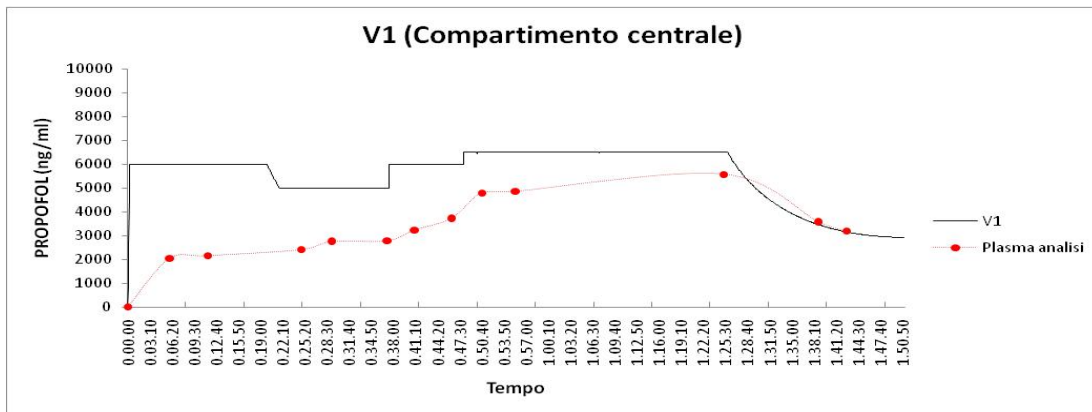


Figura 32. Soggetto 12. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione del sistema TCI-2.0 con PPF.

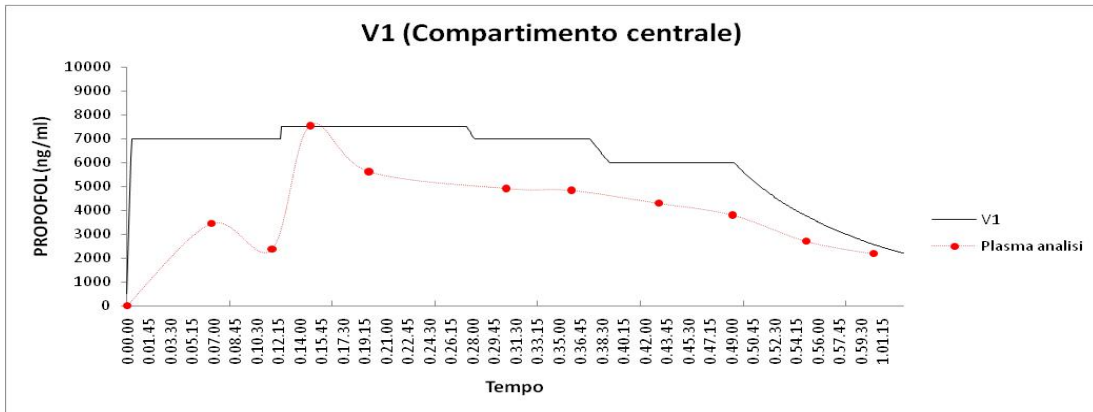


Figura 33. Soggetto 13. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione del sistema TCI-2.0 con PPF.

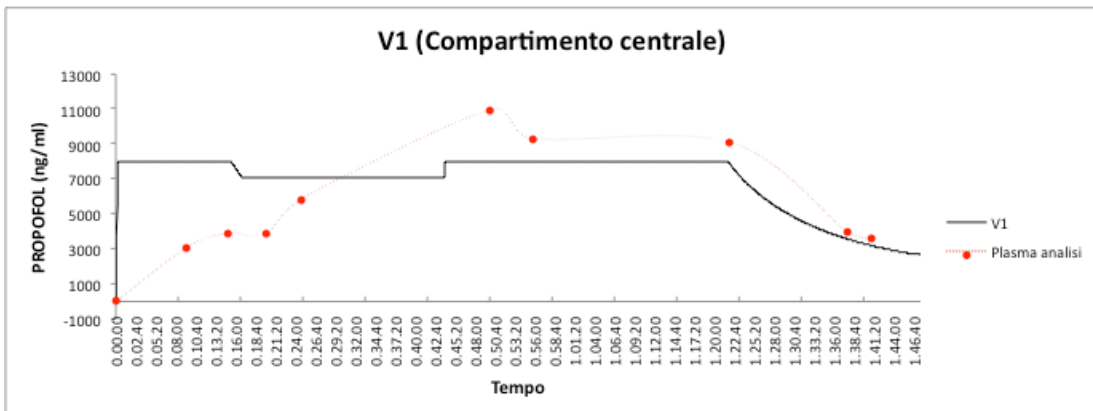


Figura 34. Soggetto 14. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione del sistema TCI-2.0 con PPF.

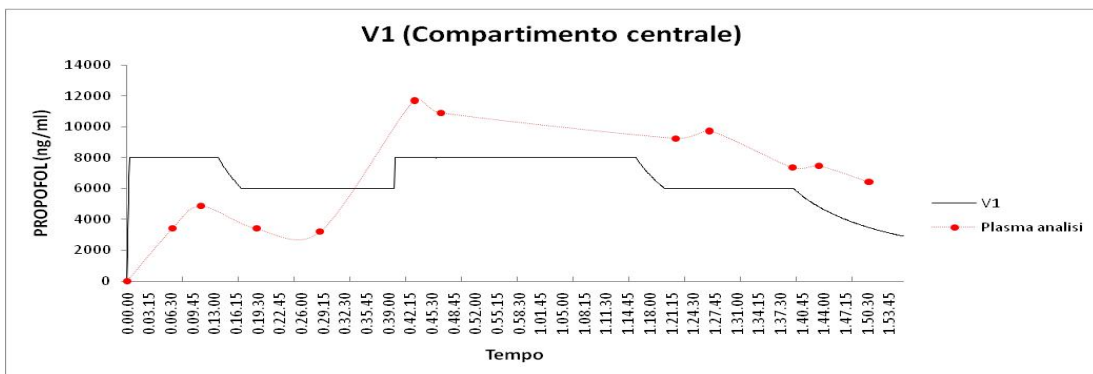


Figura 35. Soggetto 15. Andamento delle concentrazioni plasmatiche di propofol previste (V1) e misurate (Plasma analisi), durante l'applicazione del sistema TCI-2.0 con PPF.

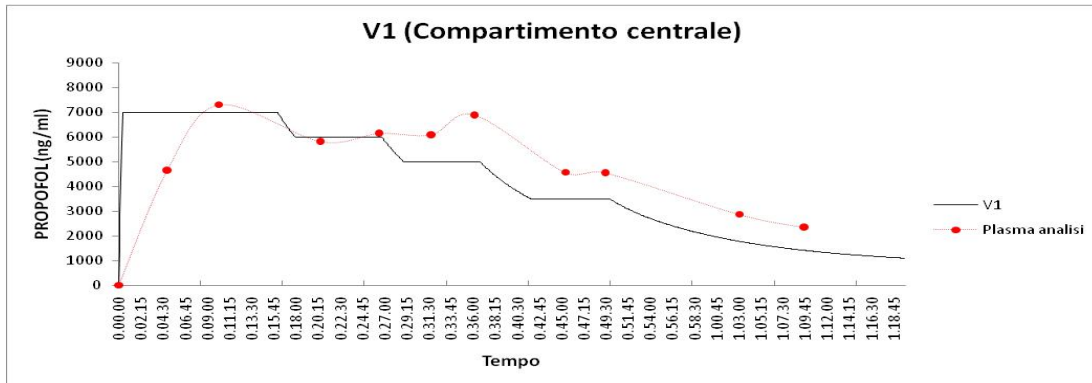
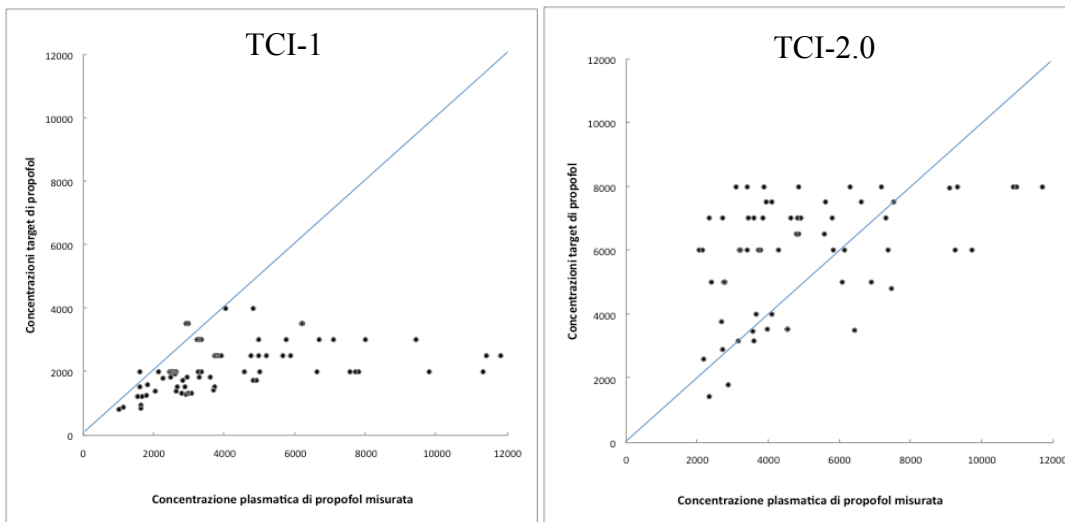


Figura 36. Grafico di dispersione delle concentrazioni plasmatiche target previste rispetto alle concentrazioni plasmatiche misurate con HPLC nei due gruppi; la linea continua rappresenta la performance ideale con PE%=0.



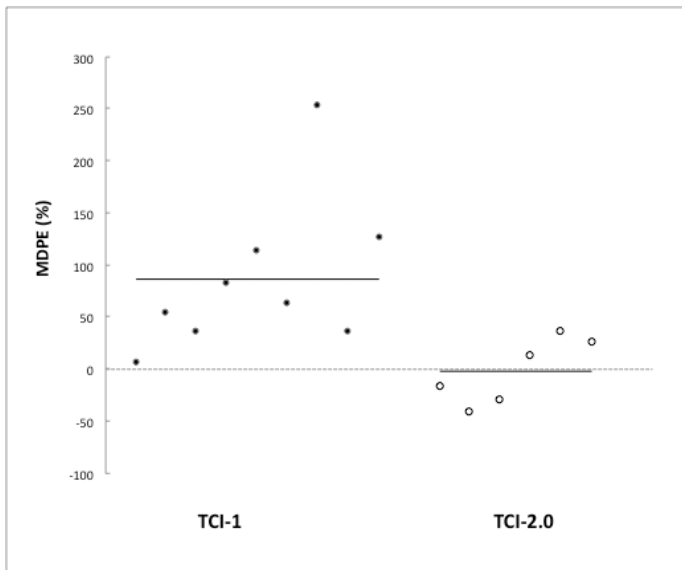


Figura 37. MDPE% nei due gruppi. La linea continua indica la mediana del gruppo.

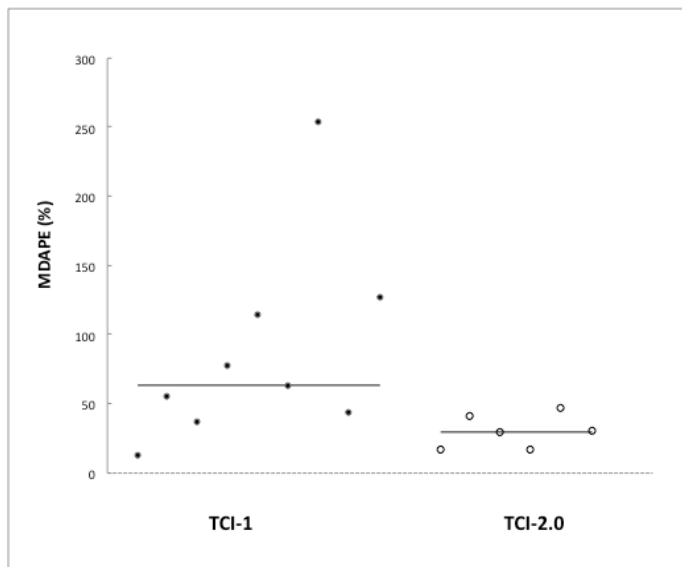


Figura 38. MDAPE% nei due gruppi. La linea continua indica la mediana del gruppo.

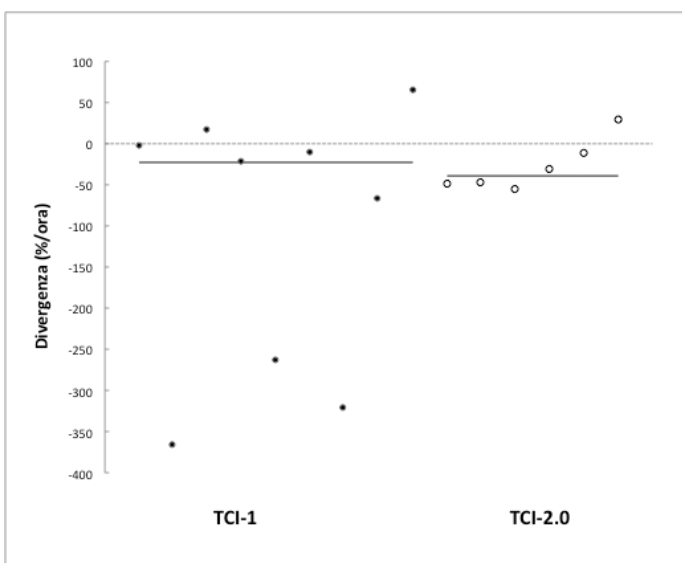


Figura 39. Divergenza nei due gruppi. La linea continua indica la mediana del gruppo.

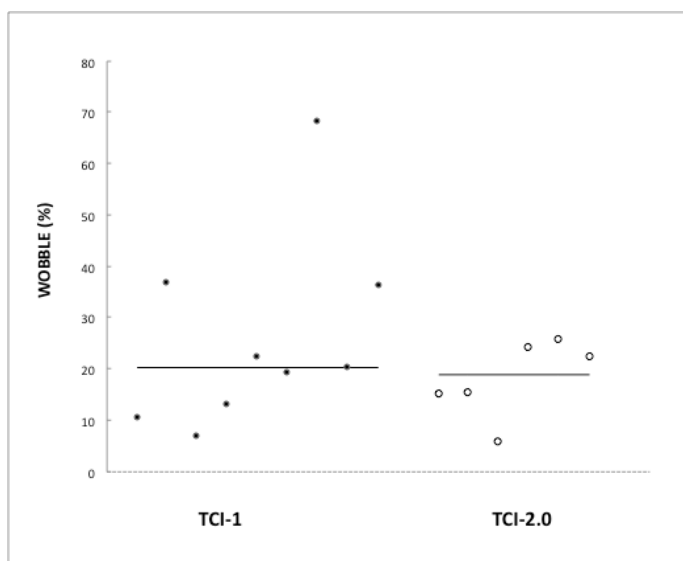


Figura 40. Wobble nei due gruppi. La linea continua indica la mediana del gruppo.

4.5. DISCUSSIONE

L'obiettivo di questo studio era quello di valutare la performance di un sistema TCI sviluppato in ambito clinico, a partire da un modello prototipo, al fine di validarne l'accuratezza.

Il sistema, denominato TCI-2.0, è stato programmato con parametri PK derivati dall'analisi della sua stessa performance clinica, ottenuta con un primo set. La prima farmacocinetica ha dimostrato di non essere adatta alla predizione di somministrazioni infusionali continue e si è cercato, pertanto, di correggere i difetti riscontrati nell'applicazione del sistema prototipo.

I risultati ottenuti hanno messo in luce un netto miglioramento della performance del sistema modificato, riducendo l'errore predittivo entro valori ritenuti statisticamente accettabili. In tutti i soggetti si è osservata una diminuzione della variabilità nelle previsioni effettuate dal software di comando, sottolineando e riducendo la componente di errore generata dal modello PK, impreciso nel descrivere una situazione differente da quella di derivazione, il bolo rapido. Buona parte della variabilità interindividuale e dell'errore di predizione rimanente, rappresenta, invece, la componente legata alla diversità tra i singoli individui e ai fattori di disturbo

esterni, quali chirurgia e la stimolazione che ne deriva, i cambi di posizione dell'animale, gli errori di campionamento e i farmaci cosomministrati.

4.5.1. Ottimizzazione del set di parametri farmacocinetici

È possibile ottimizzare un sistema di infusione controllata a target in modo da minimizzare la grandezza dell'errore medio, la divergenza, la wobble, o la deviazione, ma non è possibile ottimizzare il sistema cercando di ridurre tutti questi indici contemporaneamente. Per ognuna delle misure di riferimento menzionate, esisterà un solo set di parametri farmacocinetici ottimale. È necessario decidere in anticipo, quale di queste misure della performance sia più importante e intervenire in modo appropriato in quella direzione.

L'approccio più semplice, e anche quello maggiormente valido secondo l'analisi condotta da Varvel e colleghi nel 1991, è quello di dare alla misura dell'inaccuratezza (MDAPE%) la priorità più alta. Ciò equivale a mettere al primo posto la ricerca del più piccolo errore tipico possibile. I sistemi TCI sono controllati attraverso il settaggio dei target plasmatici da parte dell'operatore; è ragionevole mirare a fare sì che questo controllo, la concentrazione target, sia meno imprecisa possibile. Le altre misure di performance, divergenza, wobble, e deviazione, pur fornendo utili indici qualitativi del sistema, sono di secondaria importanza (Varvel et al, 1991).

Il modello PK ottenuto attraverso le simulazioni al computer, essendo stato ottenuto cercando di mantenere più basso possibile l'errore di predizione in tutti i soggetti e per tutta la durata dell'infusione simulata, rappresenta, almeno idealmente, un ottimo modello, innanzi tutto perchè progettato con l'obbiettivo primario di ridurre l'inaccuratezza, come suggerito da Varvel et al (1991) e secondariamente perché è implementato sul sistema stesso e sulla sua applicazione clinica. Abbiamo ritenuto che la scelta di sviluppare un sistema su animali non sperimentali, sottoposti a chirurgia, se pur esponesse i risultati ad una più alta variabilità e possibilità di errore, avrebbe restituito un sistema TCI, solido e affidabile, in un più ampio spettro di realtà applicative.

Il metodo che ha permesso di giungere ai parametri PK ottimizzati si è basato su ripetuti aggiustamenti empirici dei singoli parametri farmacocinetici.

La riduzione del volume del compartimento centrale è stata la prima sostanziale ottimizzazione. Il modello PK su cui si basava TCI-1 determinava un'infusione a regime troppo alto, risultando in concentrazioni plasmatiche più alte di quelle mirate. Il volume del compartimento centrale è stato, pertanto, abbassato, fino ad ottenere simulazioni che ricalcassero l'iniziale picco plasmatico di induzione. Il coefficiente correttivo ottenuto per V_1 è 0,306.

L'inclinazione delle rette di congiunzione delle misurazioni plasmatiche nel tempo, è stata utilizzata, invece, per determinare i fattori di correzione per le costanti di distribuzione e di eliminazione. Le costanti di distribuzione intercompartimentale rapida (k_{12} e k_{21}) sono determinati nelle primissime fasi di infusione, in cui esiste un forte gradiente tra compartimento centrale e organi ad elevata perfusione o, comunque, ogni qualvolta si verifichi un rapido incremento della concentrazione di PPF in V_1 . Analogamente per le costanti di distribuzione lenta (k_{13} e k_{31}), la cui modificazione influisce, però, su un lasso di tempo maggiore, avendo un tempo di saturazione più alto. La costante di eliminazione (k_{10}) è coinvolta in modo importante in tutte le fasi di un tracciato di concentrazione/tempo, ma l'effetto di una sua modificazione, nella simulazione di un'infusione continua, è determinante soprattutto nel lungo termine, quando l'andamento delle concentrazioni plasmatiche è maggiormente dipendente dalla velocità di eliminazione, piuttosto che dalla ridistribuzione tra compartimenti. Le costanti di trasferimento ai compartimenti periferici sono state ridotte, ottenendo un fattore di correzione di 0,37 per k_{12} e 0,8 per k_{13} ; la costante di ridistribuzione dal compartimento periferico lento (k_{31}) è stata variata di un fattore 0,5. Infine, la costante di eliminazione dal compartimento centrale (k_{10}), ha subito un incremento di un fattore 1,5.

È possibile, pertanto, riassumere il modello farmacocinetico integrato in TCI-2, come segue:

$$V_1 = 0,35 \cdot (1 + 3,268 \cdot bol)$$

$$k_{10} = 0,06 \cdot (1 + 0,67 \cdot bol)$$

$$k_{12} = 0,1 \cdot (1 + 2,70 \cdot bol)$$

$$k_{21} = 0,4$$

$$k_{13} = 0,04 \cdot (1 + 1,25 \cdot bol)$$

$$k_{31} = 0,01 \cdot (1 + 2 \cdot bol)$$

dove il valore del termine *bol* sarà uguale a 1 per l'applicazione al bolo e 0 per l'applicazione all'infusione.

4.5.2. Valutazione della performance predittiva del sistema

TCI-2.0 e confronto con il sistema TCI-1

La performance predittiva del sistema è stata verificata attraverso il calcolo dei PE e la derivazione degli indici correlati. L'MDAPE è una misura della grandezza dell'errore tipico. Valori al di sotto del 20% rappresentano un errore molto basso e valori massimi del 40% sono stati definiti un limite accettabile per un sistema TCI (Swinhoe et al,1998). Il valore deve essere adattato all'indice terapeutico del farmaco esaminato. Per trovare un'analogia con l'anestesia inalatoria, il valore indicato equivale ad una differenza dello 0,5vol% circa, tra il valore settato sul vaporizzatore e la reale concentrazione di isoflurano al sito effetore (sistema nervoso centrale). L'MDPE stima la deviazione e sono considerati accettabili valori inferiori a 20%. Quando wobble (oscillazione della predizione) e divergenza (la tendenza dell'errore ad aumentare o diminuire nel tempo) sono basse (inferiori a $\pm 20\%$), l'utilizzatore può presupporre che l'errore (MDAPE) rimanga costante nel tempo e nei singoli soggetti (Levionnois et al, 2010).

Un sistema TCI è clinicamente impiegabile, a patto che l'errore eventualmente presente, che non ne pregiudica di per se la validità, non subisca variazioni nel corso di ogni singolo episodio anestetico. Poiché, infatti, la TCI viene utilizzata calibrando il target sulla risposta clinica del soggetto, l'impiego clinico non risente della variabilità inter-individuale, negli intervalli di deviazione e accuratezza riportati (Schwilden e Schüttler, 2008).

La capacità predittiva del modello TCI-2.0, calcolata in questo lavoro, è buona, come confermato dagli indici di performance calcolati. Il valore di deviazione è stato sensibilmente diminuito, da 63,50 [31,24 / 151,93] del gruppo 1, con sistema TCI-1, a -1,85 [-35,19 / 31,08] del gruppo 2, con il nuovo sistema TCI-2.0. La differenza tra i gruppi, analizzata con test della varianza, per il parametro considerato è risultata statisticamente significativa ($p=0,016$). Nel grafico di dispersione delle concentrazioni plasmatiche previste, rispetto a quelle misurate, in Figura 36, è chiaramente osservabile come i PE abbiano una distribuzione molto più omogenea

nel secondo gruppo, in cui si posizionano equamente lungo il valore nullo. Poiché il set PK impiegato è stato derivato simulando una predizione che fosse quanto più vicina alla media delle concentrazioni plasmatiche misurate nel gruppo 1, non stupisce che il comportamento reale del modello mantenga questa caratteristica. L'obiettivo più importante che ci eravamo posti nell'ottimizzazione del modello farmacocinetico, era quello di ridurre l'elevata inaccuratezza riscontrata nel modello TCI-1, che rendeva il sistema clinicamente non sufficientemente attendibile. L'inaccuratezza predittiva (MDAPE%) è stata notevolmente abbassata, da 63,50 [31,28 / 151,93] del gruppo 1, con sistema TCI-1, a 29,67 [16,85 / 43,93] del gruppo 2, con il nuovo sistema TCI-2.0. La differenza tra i gruppi, analizzata con test della varianza, per il parametro considerato, è risultata essere statisticamente non significativa. Tuttavia, abbiamo osservato la presenza, nel gruppo 1, di un soggetto con deviazione standard dalla media molto alta, come è chiaro dai dati numerici raccolti nella Tabella 17 e dalle rappresentazioni grafiche degli indici di errore nelle Figure 36 e 37. Escludendo dalla media questo *outlier*, si è ridotta notevolmente la deviazione standard e il test ha dato significatività statistica per la differenza di MDAPE tra i gruppi ($p < 0,05$). Il valore della divergenza, che era pari a -22,77 [-331 / 26,57] nel gruppo 1, è aumentato in senso negativo con un valore pari a -39,08 [-50,02 / 8,23] nel gruppo 1. Il valore ottenuto denota una diminuzione più marcata dell'errore nel tempo, indicando una prestazione ottimizzata soprattutto nell'ultima parte dell'infusione. La differenza tra i gruppi relativamente a questo parametro, non è statisticamente significativa ($p > 0,05$). Ricordando che la divergenza rappresenta la percentuale di variazione dell'errore per ora, si intuisce che, nonostante un valore più negativo, la prestazione generale del sistema rimane comunque migliore per il sistema 2.0. I due valori di divergenza non devono, pertanto, essere considerati per un confronto, se non sulla base del loro rapporto con l'errore tipico. I valori di wobble del sistema TCI-2.0 sono rimasti sostanzialmente uguali al precedente modello (20,32 [9,8 / 43,10] nel primo gruppo, 18,93 [10,49 / 25,01] nel secondo gruppo). La differenza non è statisticamente significativa ($p > 0,05$).

Nell'analisi delle performance predittive dei due sistemi, è emersa una variabilità significativamente più bassa nei risultati predittivi di TCI-2.0. La spiegazione di questo risultato non sembra essere legata al modello farmacocinetico impiegato, che,

almeno in soggetti idealmente omogenei nella fisiologia, dovrebbe restituire curve di concentrazione sovrapponibili, se pur deviate dai dati simulati; la causa principale della variabilità potrebbe, invece, essere ricercata nei fattori di disturbo provenienti dall'esterno. È ipotizzabile che la standardizzazione della procedura e la maggiore familiarità con l'uso del sistema sviluppata nel tempo dall'anestesista, abbia ridotto sensibilmente una componente della variabilità legata all'operatore.

Una rilevante fonte di variabilità è, inoltre, associata alle variazioni di PK derivate dai cambiamenti emodinamici intraoperatori, legati all'atto chirurgico e al rilascio di catecolamine, come già osservato e discusso nei capitoli precedenti. Anche in questo caso, è lecito credere che ci possa essere stato un migliore controllo della risposta adrenergica allo stimolo nel secondo gruppo e che questo abbia diminuito le differenze intersoggettive di PK. Le dosi di PPF infuse durante il mantenimento dell'anestesia sono state infatti mediamente più alte nel gruppo 2 che nel gruppo 1 (dose: $14,30 \pm 4,99 \text{ mg kg}^{-1}$ vs $9,94 \pm 3,97 \text{ mg kg}^{-1}$; velocità di infusione: $0,20 \pm 0,04 \text{ mg kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ vs $0,18 \pm 0,06 \text{ mg kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ rispettivamente). Questa, tuttavia, resta una congettura, poiché le differenze nei valori medi tra i gruppi, non sono abbastanza grandi da poter escludere la possibilità che la differenza stessa sia dovuta a variabilità di campionamento.

È ampiamente documentata in medicina umana come in veterinaria, una variabilità farmacocinetica associata a parametri quali, peso, età, obesità, razza, patologie sistemiche e gravidanza (Cortínez et al, 2010; Constant e Rigouzzo, 2010; Anderson, 2010; Kreuer et al, 2005; Li et al, 2003; White et al, 2008; Beths et al, 2001).

I gruppi di questo studio sono stati confrontati con test della varianza, relativamente ai parametri età e peso, risultando omogenei all'interno del gruppo e privi di differenze statisticamente significative tra di loro; erano, inoltre, tutti di razza eropea, controllati per lo stato di salute, eventuali gravidanze in corso e obesità.

I modelli con ricircolo sono sicuramente più precisi di quelli compartimentali, nel descrivere, ad esempio, il primo periodo di distribuzione; sono un compromesso tra i modelli compartimentali e quelli fisiologici, i quali incorporano numerosi sottosistemi farmacocinetici. I modelli con ricircolo sono in grado di fornire una struttura concettuale semplice per la complicata relazione tra la gittata cardiaca, la velocità di iniezione in bolo e le concentrazioni di farmaco iniziali, che mancano nei

modelli compartimentali (Reekers et al, 2003). L'introduzione in TCI di modelli di questo tipo ha permesso di migliorare notevolmente le prestazioni dei sistemi (Masui et al, 2010). La pratica clinica nei pazienti umani ha, tuttavia, dimostrato che nonostante la variabilità inter-individuale della farmacocinetica e della farmacodinamica e la carente accuratezza nei primi minuti dell'induzione, con i sistemi TCI è possibile ottenere un'anestesia efficace e sicura, essendo con tali sistemi, molto semplice la regolazione della profondità di anestesia desiderata (Struys et al, 1997; Russell, 1998; Li et al, 2005).

Il sistema ottimizzato, rientrando con buon margine nei range descritti in letteratura per i diversi indici di previsione (Glass et al, 1991; Swinhoe et al, 1998; Beths et al, 2001; Egan, 2003; Li et al, 2005; Levionnois, 2010), può essere considerato clinicamente accettabile.

4.5.3. Induzione dell'anestesia con TCI-2.0

La dose media di propofol impiegata per ottenere l'induzione dell'anestesia e riuscire ad intubare la trachea in tutti i soggetti dello studio ($4,16 \pm 0,44 \text{ mg kg}^{-1}$) risulta in linea con le dosi riportate in letteratura per gatti premedicati (Hall et al, 1999). La dose non differisce significativamente da quella trovata per l'induzione con sistema TCI-1 ($4,81 \pm 1,25 \text{ mg kg}^{-1}$).

La dose media necessaria per l'induzione del 50% di gatti non premedicati è riportata essere tra $7,22$ e $7,80 \text{ mg kg}^{-1}$ (Hall et al, 1999; Geel, 1991). Weaver e Raptopoulos (1990), riportano la dose media di $5,3 \pm 4,3 \text{ mg kg}^{-1}$ per gatti premedicati con farmaci diversi. Taboada e Murison (2010) hanno ottenuto una dose di induzione più alta ($7,5 \pm 2,0 \text{ mg kg}^{-1}$), in gatti premedicati con sola acepromazina e meloxicam; così anche Geel (1991), riporta la dose di $7,1 \pm 0,9 \text{ mg kg}^{-1}$, in gatti premedicati con acepromazina. Tuttavia, è riportata una scarsa capacità dell'acepromazina nel ridurre la dose di anestetico all'induzione nel gatto (Brearley et al, 1988; Geel, 1991). In contrapposizione, Hall e colleghi hanno descritto una riduzione significativa della dose di induzione con PPF, in gatti premedicati con acepromazina e uno dei due oppioidi, butorfanolo o morfina, riportando una dose di induzione pari a 5 mg kg^{-1} . Non esistono valori di riferimento per gatti premedicati con medetomidina, ketamina

e metadone usati in combinazione, al di fuori di quelli descritti da noi stessi, nel Capitolo 3 di questa tesi.

La concentrazione plasmatica, misurata con HPLC, nel sangue venoso dei 6 gatti indotti con sistema TCI-2.0, due minuti dopo l'intubazione, è stata in media di $3,23 \pm 0,87 \mu\text{g ml}^{-1}$. Confrontata con quella misurata nel gruppo 1 ($4,92 \pm 2,43 \mu\text{g ml}^{-1}$), risulta più bassa di più di $1,5 \mu\text{g ml}^{-1}$, nonostante l'obiettivo posto fosse quello di aumentare il target rispetto allo studio sul gruppo 1. Il valore mediano di PE% all'intubazione (-59,12) con sottostima del target in 6 soggetti su 6 è fortemente indicativo di un difetto nel modello farmacocinetico. Un'eccessiva riduzione del volume di distribuzione e della k_{12} , nel modello ottimizzato, è, con larga probabilità, responsabile della sottostima al momento dell'induzione. A posteriori, dai risultati ottenuti in questo lavoro, un coefficiente correttivo più contenuto, per i due parametri sopracitati) sarebbe forse stato più appropriato. Si è ipotizzato che la maggior parte degli errori di predizione osservati in questo studio sia derivata da un valore di V_1 troppo basso, come parte dell'errore intrinseco del modello farmacocinetico impiegato. Tuttavia, essendo la situazione clinica soggetta, inevitabilmente, a condizioni non costanti, un fattore estrinseco di variabilità (ad esempio la gittata cardiaca), non può essere escluso.

La concentrazione è più bassa rispetto a quella riportata nell'uomo ($8,7 \mu\text{g ml}^{-1}$). Nel 2001, Beths e colleghi in un lavoro di validazione di un sistema TCI per il PPF nel cane, ha concluso che una concentrazione target di $3 \mu\text{g ml}^{-1}$ determina una depressione del SNC e dei riflessi autonomici sufficiente per una intubazione agevole, e Musk et al (2005) hanno, successivamente, riportato la concentrazione di $3,5 \mu\text{g ml}^{-1}$ come quella ottimale per l'induzione di cani premedicati.

In 4 soggetti su 6 (66,7%) l'intubazione è stata possibile al primo tentativo, in un gatto, tuttavia, l'inserimento del tracheotubo ha evocato una espirazione forzata, di entità non valutata tale da richiedere il ripetersi dell'intubazione. In un gatto, l'intubazione è stata possibile al secondo tentativo, 30 secondi dopo una prima prova fallita. In un soggetto (n. 1), l'intubazione ha richiesto due aumenti di target consecutivi. Il primo di $0,5 \mu\text{g ml}^{-1}$ e il secondo, di $2 \mu\text{g ml}^{-1}$, in un solo step, poiché l'induzione si protraeva troppo e l'animale dava segni di agitazione. In questo soggetto un'allarme di eccessiva pressione nella linea infusione ha bloccato per

alcuni secondi il sistema. La causa della ritardata induzione è stata la flessione dell'avambraccio del gatto, che impedendo il ritorno venoso ha rallentato l'induzione e mandato in allarme la pompa. In nessuno dei 6 gatti si sono verificati eventi avversi all'induzione, quali apnea, pedalamiento, fascicolazioni o segni di dolore all'iniezione, come descritto occasionalmente in letteratura, fatta eccezione per il soggetto con ritardata induzione in cui si sono osservati segni movimenti di pedalamiento e opistotono (Weaver e Raptopoulos, 1990; Morgan e Legge, 1989; Muir e Gadawski, 1998; Sano et al, 2003). Il tempo medio di induzione, calcolato come il tempo intercorso tra l'inizio dell'infusione e la riuscita intubazione, è stato di $4,65 \pm 2,48$ minuti, rispetto ai $3,51 \pm 1,46$ minuti, che erano stati misurati nei gatti del gruppo 1. Nonostante un aumento del tempo di induzione medio fosse previsto, modificando la PK, la differenza nei due gruppi non risulta statisticamente significativa ($p > 0,05$). La durata media dell'induzione è risultata accettabile in tutti i soggetti, tranne nel gatto n.1, in cui il tempo è stato di 9,58 minuti, e sovrapponibile ai tempi (1-7 minuti) riportati per l'induzione con un sistema TCI nel cane (Beths et al, 2001; Musk Flaherty, 2007).

Alla luce di quanto appena detto, possiamo affermare che la concentrazione plasmatica compresa tra $3,23 \mu\text{g ml}^{-1}$ e $4,92 \mu\text{g ml}^{-1}$ è da considerarsi adeguata come target plasmatico per l'intubazione nel gatto, tuttavia, un target plasmatico superiore sembrerebbe permettere un'intubazione più agevole e rapida in tutti i soggetti. L'apnea è considerata uno degli effetti indesiderati più comuni del PPF e la probabilità che essa si manifesti è proporzionale alla dose e alla rapidità della somministrazione; l'impiego di target plasmatici più alti di quello riportato, pur migliorando la qualità dell'induzione, aumenta il rischio di incorrere in questo ed in altri effetti avversi, quali l'ipotensione e la bradicardia (Weaver e Raptopoulos, 1990; Morgan e Legge, 1989; Muir e Gadawski, 1998; Sano et al, 2003; Cleale et al, 2009). Beths e colleghi (2001), nel cane, hanno riportato concentrazioni plasmatiche target di intubazione comprese tra 2 e $15 \mu\text{g ml}^{-1}$, ottenendo, con le concentrazioni più alte, un elevato tasso di apnea. Nonostante un'induzione lenta, con target di $3 \mu\text{g ml}^{-1}$, essi non hanno osservato fenomeni di eccitazione, raggiungendo un'induzione calma ed in modo controllato. Musk et al (2005) sono arrivati alle stesse conclusioni,

indicando il target di $3 \mu\text{g ml}^{-1}$ come il più appropriato nel cane. Nel presente studio non abbiamo osservato in alcuno dei soggetti apnea all'induzione.

4.5.4. Mantenimento dell'anestesia con TCI-2.0

La concentrazione plasmatica target di mantenimento, calcolata come la media dei target impostati durante l'anestesia, da 7 minuti dopo l'induzione alla cessazione dell'infusione, nel gruppo 2, è stata pari a $6,44 \pm 1,27 \mu\text{g ml}^{-1}$, mentre la media delle concentrazioni misurate con HPLC, nello stesso periodo temporale, è risultata pari a $5,56 \pm 2,46 \mu\text{g ml}^{-1}$. La concentrazione media misurata nel gruppo anestetizzato con sistema TCI-1, era stata più bassa ($4,74 \pm 2,70 \mu\text{g ml}^{-1}$). La concentrazione plasmatica più elevata con il sistema TCI ottimizzato, è legata ad una maggiore confidenza nei confronti del sistema, acquisita dall'anestesista nel corso dello studio precedente, oltre che ad una volontaria calibrazione dei target impostati, al fine di ridurre la possibile risposta alla chirurgia.

Il valore plasmatico ottenuto si avvicina molto a quello riportato da Beths (2008) per cani mantenuti con PPF in TCI ($4,1 \pm 1 \mu\text{g ml}^{-1}$) e a quelli osservati nell'uomo (Davidson et al, 1993; Taylor et al, 1993). Nella specie umana, è ampiamente documentata una variabilità di PK e PD inter-individuale in grado di influenzare pesantemente l'intervallo di concentrazioni plasmatiche di PPF necessarie per l'induzione e il mantenimento dell'anestesia.

Anche la somministrazione contemporanea o in premedicazione di altri farmaci può sensibilmente alterare le concentrazioni plasmatiche di mantenimento (Geel, 1991; Bufalari et al, 1998). Ilkiw e Pascoe (2003) hanno determinato la minima velocità di infusione (MIR_{50}) del PPF nel gatto, necessaria per abolire diversi riflessi. L'aggiunta di ketamina in infusione continua è risultata ridurre significativamente la MIR_{50} del PPF. Qualora in premedicazione fossero stati utilizzati altri farmaci con minore effetto sedativo, come benzodiazepine o composti fenotiazinici, è ipotizzabile che le concentrazioni plasmatiche medie di mantenimento sarebbero risultate più alte. Nell'uomo e negli altri animali, i livelli di PPF necessari per l'induzione e il mantenimento dell'anestesia sono, variabili e dipendenti dai farmaci somministrati contemporaneamente, dallo stato di salute del paziente e dal tipo di procedura per cui

è richiesta l'anestesia (Dixon et al, 1990; Hiraoka et al, 2003; Hans et al, 2010; Geel, 1991; Bufalari et al, 1998).

Nel presente studio la velocità media di infusione di mantenimento è stata di $0,20 \pm 0,04 \text{ mg kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ (Tabella 16), corrispondente al regime minimo del range riportato nel il gatto ($0,2-0,5 \text{ mg kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$), per infusioni controllate manualmente (Mendes e Selmi, 2003; Flecknell, 2009).

Non sembra esserci una reale economicità nel consumo di PPF da parte del sistema TCI-2.0. Nell'uomo, è stato appurato, addirittura, un consumo superiore da parte dei sistemi TCI (Russell et al, 1995; Struys et al, 1997; Servin, 1998). I nostri risultati, tuttavia, sono influenzati dallo schema infusionale piuttosto rigido, imposto dal disegno sperimentale, in cui la libertà dell'anestesista di variare i target plasmatici in funzione della risposta clinica era limitata.

I gatti inclusi in questo studio erano tutti classificati come ASA I e ulteriori studi sono necessari, al fine di definire gli appropriati target plasmatici in gatti con patologie sistemiche significative. L'effetto della scarsa familiarità con il sistema, da parte dell'anestesista, osservato nello studio di valutazione del primo sistema TCI-1, e manifestatasi con dosi di mantenimento più elevate e tempi di risveglio maggiori, nei primi due soggetti anestetizzati, non è stato presente per i gatti del gruppo 2. L'osservazione trova riscontro anche per i pazienti umani, in cui anestesisti con poca esperienza, pur trovando il sistema TCI semplice da usare rispetto alla tecnica manuale, tendevano ad impiegare target più alti per induzione e mantenimento.

4.5.5. Arresto dell'infusione ed estubazione

Nei 6 gatti del gruppo 2, il tempo medio di estubazione è stato pari a $8,04 \pm 5,46$ minuti. La differenza con i tempi di estubazione del gruppo 1 non è significativa ($p > 0,05$).

La predisposizione all'accumulo del farmaco, con regimi di infusione elevati e tempi prolungati, è descritta nel gatto (Pascoe et al, 2006; Zonca, 2010), oltre che essere stata prevista, sulla base dei risultati farmacocinetici ottenuti (Capitolo 2). Pascoe et al (2006), hanno osservato un significativo aumento dei tempi di recupero della deambulazione coordinata, con l'aumentare del tempo di infusione; nel presente lavoro, non sono stati valutati i tempi di recupero della stazione o della

deambulazione e, pertanto, non possiamo effettuare un confronto, tuttavia i tempi di estubazione da noi riportati con l'impiego del sistema TCI-2.0 con PPF, sono accettabili dal punto di vista clinico

La concentrazione plasmatica media di estubazione, di $3,88 \pm 1,83 \mu\text{g ml}^{-1}$, non si discosta dai valori riportati da Beths ($1,94 \pm 0,5 \mu\text{g ml}^{-1}$) in cani anestetizzati con TCI di propofol per procedure odontostomatologiche, e da Reid e Nolan ($2,3 \mu\text{g ml}^{-1}$) in cani di razza beagle anestetizzati con MCI di propofol (Reid e Nolan, 1993; Beths, 2009).

4.6. CONCLUSIONI

Gli obiettivi di questo lavoro erano, come prima cosa, di modificare il set di parametri farmacocinetici derivanti dallo studio di una farmacocinetica tri-compartimentale ottenuta sul bolo endovenoso, al fine di ottimizzare le prestazioni del sistema. Quindi, di valutare le prestazioni del nuovo sistema, con il fine di verificarne l'accuratezza predittiva in ambito clinico, e di descrivere dei valori di concentrazioni plasmatiche target di riferimento relative ad induzione, mantenimento ed estubazione, utili per studi futuri.

Il sistema derivato, TCI-2.0, ha dimostrato buone capacità predittive e un'ottima maneggevolezza per il mantenimento dell'anestesia. L'apnea, un effetto collaterale tra i più comuni, non si è verificata negli animali oggetto dello studio. Il sistema può, quindi, essere impiegato per modificare rapidamente ed efficacemente la profondità dell'anestesia, senza pericolo di effetti indesiderati, nell'intervallo di concentrazioni plasmatiche da noi riportate.

La tempistica dei prelievi ematici può avere un impatto significativo sulla valutazione della performance del sistema. Se è previsto un intenso campionamento (per esempio ogni 30 secondi) immediatamente dopo l'inizio della somministrazione di farmaco con TCI, la probabilità di incorrere in ampia variabilità (e di conseguenza anche grande inaccuracy) nelle osservazioni, è più alta che se il primo campionamento viene raccolto più tardi (ad esempio a 10-20 minuti). Questo rapporto di correlazione tra inaccuracy e tempo di campionamento è supportata dai dati di Raemer et al (1988) che mostrano chiaramente una più ampia variabilità di performance, nei primi 10 minuti che nella parte successiva dell'infusione. La più

ampia variabilità osservata nelle prime fasi può essere ricondotta ad almeno due cause: la prima è che le conoscenze relative alla prima fase di distribuzione siano meno precise; la seconda è che la popolazione presenti più ampia variabilità nella prima fase distributiva. Il tempo di campionamento deve rispecchiare l'uso che del sistema si vorrà fare. Se si vuole ottenere un sistema valido nei primi 10 minuti di infusione, il campionamento ematico dovrà essere intenso in questa fase. Le concentrazioni plasmatiche precoci di un anestetico endovenoso sono importanti per avere la sicurezza di non uscire dall'intervallo di sicurezza del farmaco e perché le maggiori complicazioni legate al PPF (apnea, ipotensione, bradicardia, riduzione del CO) sono frequentemente associate al picco plasmatico e perché eventi importanti (come l'intubazione delle vie aeree) avviene all'interno di questo periodo (Varvel et al, 1992).

La variabilità tipica dei parametri farmacocinetici di una popolazione suggerisce un limite nell'accuratezza che possiamo ottenere con un sistema TCI. Su grosse popolazioni, il coefficiente di variazione nella stima del volume di distribuzione o della clearance, ha valori compresi tra 0,30 e 0,50. Il volume di distribuzione iniziale determina le concentrazioni plasmatiche precoci, mentre la clearance determina quelle terminali. Ipotizzando una variabilità interindividuale, nel corso di tutta l'infusione con TCI, di grandezza simile a quelle iniziale e finale, si verifica che per coefficienti di variazione di 0,30, 0,40 o 0,50 ci potremo aspettare degli MDAPE di 20%, 26% e 31%, rispettivamente. Valori di MDAPE inferiori a questi, suggeriscono, o una maggiore uniformità della popolazione dello studio, rispetto a quella generale, o che la variabilità interindividuale delle costanti di trasferimento e del volume dei compartimenti periferici è inferiore alla variabilità del volume centrale e della clearance.

Al fine di controllare la risposta agli stimoli chirurgici il solo PPF non è sufficiente. L'uso concomitante di un potente oppioide a breve durata d'azione ne potrebbe migliorare molto le prestazioni, garantendo una adeguata abolizione della risposta neuroendocrina allo stimolo nocicettivo. L'impiego di fentanyl, alfentanil o sufentanil, associati a propofol, in un regime di TIVA bilanciato è riportato nel gatto con risultati soddisfacenti (Mendes e Selmi, 2003). È necessario, tuttavia, testare la risposta del modello all'introduzione di un oppioide, poiché la coinfezione di altri

farmaci può, teoricamente, modificare il profilo farmacocinetico del PPF. Le alterazioni riportate sono, tuttavia, per lo più insignificanti dal punto di vista clinico (Kanto e Gepts, 1989). Cockshott et al (1987) hanno trovato che il fentanil, nella specie umana, è in grado di ridurre il volume del compartimento centrale (47%) e del volume di distribuzione allo steady state (46%) del propofol, come anche le emivite di distribuzione (24%) ed eliminazione (27%). A differenza di quanto descritto per l'alotano (Nolan et al, 1993), il trattamento preventivo con fentanyl ha dimostrato di ridurre anche il valore di clearance del 32%, nell'uomo (Kanto e Gepts, 1989; Schuttler e Ihmsen 2000). Gatti trattati con fentanyl hanno, allo stesso modo, mostrato una riduzione del sequestro polmonare del farmaco. Il fenomeno sembra riflettere un'inibizione dell'*uptake* di anestetico, dovuta alla presenza di un farmaco altamente lipofilo, precedentemente somministrato (Matot et al, 1993). Purtroppo, nel lavoro di Mendes e Selmi (2003), né le concentrazioni plasmatiche di PPF né quelle di oppioide, sono state misurate e non è possibile, pertanto determinare se le condizioni di steady-state fossero state raggiunte.

Il PPF, non presentando generalmente eccitazione, a basse dosi, potrà essere impiegato con il sistema TCI sviluppato per ottenere sedazione di breve e lunga durata per procedure non dolorose, come uno studio radiologico oppure nell'ambito della terapia intensiva Glowaski e Wetmore, 1999). L'anestesista può variare la profondità dell'anestesia, o passare da uno stato di incoscienza ad uno di leggera sedazione, semplicemente variando il valore del target come farebbe, durante l'anestesia con alogenato, con la ghiera del vaporizzatore.

Il numero totale di gatti studiati con il sistema è ancora basso e studi ulteriori saranno necessari, per approfondire l'influenza di razza, età, condizione fisica, premedicazione, e farmaci analgesici co-somministrati, sulle concentrazioni target di PPF necessarie per particolari procedure chirurgiche e diagnostiche.

Il presente lavoro ha testato il sistema su gatti di età compresa tra i sei mesi e i cinque anni. Lo studio non è stato progettato per prendere in considerazione i pazienti anziani, che sono, invece stati esclusi. In medicina umana, diverse pubblicazioni descrivono l'impiego nel paziente anziano, di sistemi programmati con parametri PK generici. Nonostante gli autori affermino che, se l'anestesista si regola sull'effetto clinico e il modello PK incorpora l'età come covariata, la performance

del sistema sarà clinicamente accettabile, sottolineano la necessità di incorporare parametri di PK specifici per l'anziano (Ouattara et al, 2003; Passot et al, 2005; Xu et al, 2005; White et al, 2008). Reid e Nolan (1996) hanno dimostrato che, in cani geriatrici (da loro definiti quelli maggiori di otto anni), i parametri PK per il PPF, come il volume di distribuzione e l'emivita di eliminazione, non erano differenti rispetto ai cani giovani, mentre solo la clearance era leggermente prolungata (Reid e Nolan, 1996). L'impiego del sistema in soggetti di età superiore ai 5 anni sarà utile a verificare l'attendibilità del modello in un più ampio spettro di pazienti. Similmente, sono stati esclusi neonati e cuccioli dallo sviluppo del sistema. In medicina umana, i parametri PK per l'adulto, sono stati rimpiazzati con quelli specifici per il bambino (Absalom et al, 2003).

L'infusione di PPF nel gatto, è ancora trattata con un certo timore, a causa della nota insufficienza, in questa specie, degli enzimi responsabili della glucuronidazione del farmaco (Robinson e Williams 1958; Yeh et al, 1971; Davis e Westfall 1972; Miller et al, 1973; Savides et al, 1984; Wilcke, 1984; Court e Greenblatt 2000; Lascelles et al, 2007). Nonostante i risultati ottenuti nei primi soggetti del gruppo 1 di questo studio, in cui si era osservato con prolungato tempo di estubazione, i risultati successivi indicano tempi di risveglio ed estubazione clinicamente accettabili, per infusioni protratte per un periodo di 30-90 minuti. È necessario testare il sistema per tempi di infusione più protratti, al fine di valutare se vi sia un deterioramento dei tempi di risveglio, se il modello sia capace di conservare una buona accuratezza nel lungo termine e se vi siano da parte del PPF fenomeni di tossicità eritrocitaria e di esito anemico, come descritto da Andress et al. (1995) per somministrazioni protratte.

BIBLIOGRAFIA

1. Absalom A, Amutike D, Lal A, White M, Kenny GN. (2003) Accuracy of the 'Paedfusor' in children undergoing cardiac surgery or catheterization. *Br J Anaesth*, 91(4):507-13.
2. Adachi YU, Watanabe K, Higuchi H, Satoh T. (2001) The determinants of propofol induction of anesthesia dose. *Anesth Analg*, 92(3):656-61.
3. Adam HK, Glen JB, Hoyle PA. (1980) Pharmacokinetics in laboratory animals of ICI 35 868, a new i.v. anaesthetic agent, *British Journal of Anaesthesia*, 52:743-746
4. Adam HK, Glen JB, Hoyle PA. (1980) Pharmacokinetics in laboratory animals of ICI 35 868, a new i.v. anaesthetic agent. *Br J Anaesth*, 52(8):743-6.
5. Al-Jahdari WS, Yamamoto K, Hiraoka H, Nakamura K, Goto F, Horiuchi R. (2006) Prediction of total propofol clearance based on enzyme activities in microsomes from human kidney and liver. *Eur J Clin Pharmacol*, 62(7):527-33.
6. Anderson BJ. (2010) Pediatric models for adult target-controlled infusion pumps. *Paediatr Anaesth*, 20(3):223-32.
7. Anderson BJ. (2010) Pediatric models for adult target-controlled infusion pumps. *Paediatr Anaesth*, 20(3):223-32.
8. Andress JL, Day TK, Day D. (1995) The effects of consecutive day propofol anesthesia on feline red blood cells. *Vet Surg*, 24(3):277-82.
9. Auckburally A, Pawson P, Flaherty D. (2008) A comparison of induction of anaesthesia using a target-controlled infusion device in dogs with propofol or a propofol and alfentanil admixture. *Vet Anaesth Analg*, 35(4):319-25.
10. Avram MJ, Krejcie TC. (2003) Using front-end kinetics to optimize target-controlled drug infusions. *Anesthesiology*, 99(5):1078-86.
11. Aydin N, Aydin N, Gultekin B, Ozgun S, Gurel A. (2002) Bacterial contamination of propofol: the effects of temperature and lidocaine. *Eur J Anaesthesiol*, 19(6):455-8.

12. Bailey JM, Mora CT, Shafer SL. (1996) Pharmacokinetics of propofol in adult patients undergoing coronary revascularization. The Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group, *Anesthesiology*, 84(6):1288-97.
13. Barcroft J, Poole LT. (1972) The blood in the spleen pulp. *J Physiol*, 64: 23–29.
14. Beier SL, de Araujo Aguiar AJ, Vianna PT, Mattoso CR, Massone F. (2009) Effect of remifentanyl on requirements for propofol administered by use of a target-controlled infusion system for maintaining anesthesia in dogs. *Am J Vet Res*, 70(6):703-9.
15. Bennett R A. (1998) Reptile anesthesia. *Sem Av Exot Pet Med*, 7(1):30-40.
16. Bennett RA, Schumacher J, Hedjazi-Haring K, Newell SM. (1998) Cardiopulmonary and anesthetic effects of propofol administered intraosseously to green iguanas. *J Am Vet Med Assoc*, 212(1):93-8.
17. Berry CB, Gillespie T, Hood J, Scott NB. (1993) Growth of micro-organisms in solutions of intravenous anaesthetic agents. *Anaesthesia*, 48(1):30-2.
18. Beths T, Glen JB, Reid J, Monteiro AM, Nolan AM. (2001) Evaluation and optimisation of a target-controlled infusion system for administering propofol to dogs as part of a total intravenous anaesthetic technique during dental surgery. *Vet Rec*, 148(7):198-203.
19. Beths T. (2008) Total intravenous anaesthesia in dogs: development of a target controlled infusion (TCI) scheme for propofol. PhD thesis, University of Glasgow.
20. Bettschart-Wolfensberger R, Bowen MI, Freeman SL, Feller R, Bettschart RW, Nolan A, Clarke KW. (2001) Cardiopulmonary effects of prolonged anesthesia via propofol-medetomidine infusion in ponies. *Am J Vet Res*, 62(9):1428-35.
21. Bettschart-Wolfensberger R, Freeman SL, Jäggin-Schmucker N, Clarke KW. (2001) Infusion of a combination of propofol and medetomidine for long-term anesthesia in ponies. *Am J Vet Res*, 62(4):500-7.
22. Bettschart-Wolfensberger R, Kalchofner K, Neges K, Kästner S, Fürst A. (2005) Total intravenous anaesthesia in horses using medetomidine and propofol. *Vet Anaesth Analg*, 32(6):348-54.
23. Bley CR, Roos M, Price J, Ruess-Melzer K, Buchholz J, Poirier V, Kaser-Hotz B. (2007) Clinical assessment of repeated propofol-associated anesthesia in cats. *J Am Vet Med Assoc*, 231(9):1347-53.
24. Boer F. (2003) Drug handling by the lungs. *British Journal of Anaesthesia*, 91:50-60.

25. Borgeat A, Wilder-Smith OH, Suter PM. (1994) The nonhypnotic therapeutic applications of propofol. *Anesthesiology*, 80(3):642-56.
26. Branson KR. (2007) Injectable and Alternative Anesthetic Techniques. In Lumb and Jones' *Veterinary Anesthesia*, 4^a ed. Thurmon JC, Tranquilli W, Benson GJ, eds. Williams and Wilkins, Baltimore, 273-291.
27. Braun C, Hofmeister EH, Lockwood AA, Parfitt SL. (2007) Effects of diazepam or lidocaine premedication on propofol induction and cardiovascular parameters in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc*, 43(1):8-12.
28. Brearley JC, Kellagher REB, Hall LW. (1988) Propofol anaesthesia in cats. *Journal of Small Animal Practice*, 29:315-322.
29. Breslin DS, Mirakhur RK, Reid JE, Kyle A. (2004) Manual versus target-controlled infusions of propofol. *Anaesthesia*, 59(11):1059-63.
30. Briggs LP, Clarke RS, Watkins J. (1982) An adverse reaction to the administration of disoprofol (Diprivan). *Anaesthesia*, 37:1099-101.
31. Bufalari A, Short CE, Giannoni C, Vainio O. (1996) Comparative responses to propofol anaesthesia alone and with alpha 2-adrenergic medications in a canine model. *Acta Vet Scand*, 37(2):187-201.
32. Cagnardi P, Zonca A, Gallo M, Pravettoni D, Morandi N, Villa R, Carli S. (2009) Pharmacokinetics of propofol in calves undergoing abdominal surgery. *Vet Res Commun*, 33(1):177-9.
33. Cassidy MK, Houston JB. (1984) In vivo capacity of hepatic and extrahepatic enzymes to conjugate phenol, *Drug Metabolism & Disposition*, 12:619-624.
34. Chaudhri S, White M, Kenny GN. (1992) Induction of anaesthesia with propofol using a target-controlled infusion system. *Anaesthesia*, 47(7):551-3.
35. Chen G, Buell O, Gruenewald M, Fudickar A, Scholz J, Bein B. (2009) A comparison between target-controlled and manually controlled propofol infusions in patients undergoing routine surgical procedures. *Eur J Anaesthesiol*, 26(11):928-35.
36. Chen YZ, Zhu SM, He HL, Xu JH, Huang SQ, Chen QL. (2006) Do the lungs contribute to propofol elimination in patients during orthotopic liver transplantation without veno-venous bypass? *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 5(4):511-4.
37. Cheng SS, Yeh J, Flood P. (2008) Anesthesia matters: patients anesthetized with propofol have less postoperative pain than those anesthetized with isoflurane. *Anesth Analg*, 106(1):264-9.
38. Chiou WL. (1979) Potential pitfalls in the conventional pharmacokinetic studies: Effects of the initial mixing of drug in blood and the pulmonary first-

- pass elimination, *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*, 7:527-536.
39. Chiou WL. (1980) Potential effect of early blood sampling schedule on calculated pharmacokinetic parameters of drugs after intravenous administration. *J Pharm Sci*, 69(7):867-9.
 40. Cleale RM, Muir WW, Waselau AC, Lehmann MW, Amodie DM, Lerche P. (2009) Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of propofol administered to cats in a novel, aqueous, nano-droplet formulation or as an oil-in-water macroemulsion. *J Vet Pharmacol Ther*, 32(5):436-45
 41. Cockshott ID, Briggs LP, Douglas EJ, White M. (1987) Pharmacokinetics of propofol in female patients. Studies using single bolus injections. *Br J Anaesth*, 59(9):1103-10.
 42. Cockshott ID, Douglas EJ, Plummer GF, Simons PJ (1992) The pharmacokinetics of propofol in laboratory animals. *Xenobiotica*, 22(3):369-75.
 43. Cockshott ID. (1985) Propofol ('Diprivan') pharmacokinetics and metabolism - an overview. - *Postgrad Med J*, 61 (3): 45-50
 44. Coetzee JF, Glen JB, Wium CA, Boshoff L. (1995) Pharmacokinetic model selection for target controlled infusions of propofol. Assessment of three parameter sets. *Anesthesiology*, 82(6):1328-45.
 45. Constant I, Rigouzzo A. (2010) Which model for propofol TCI in children. *Paediatr Anaesth*, 20(3):233-9.
 46. Correia D, Nolan AM, Reid J. (1996) Pharmacokinetics of propofol infusions, either alone or with ketamine, in sheep premedicated with acepromazine and papaveretum. *Res Vet Sci*, 60(3):213-7.
 47. Correia D, Nolan AM, Reid J. (1996) Pharmacokinetics of propofol infusions, either alone or with ketamine, in sheep premedicated with acepromazine and papaveretum. *Res Vet Sci*, 60(3):213-7.
 48. Cortínez LI, Anderson BJ, Penna A, Olivares L, Muñoz HR, Holford NH, Struys MM, Sepulveda P. (2010) Influence of obesity on propofol pharmacokinetics: derivation of a pharmacokinetic model. *Br J Anaesth*, 105(4):448-56.
 49. Coskun D, Celebi H, Karaca G, Karabiyik L. (2010) Remifentanyl versus fentanyl compared in a target-controlled infusion of propofol anesthesia: quality of anesthesia and recovery profile. *J Anesth*, 24(3):373-9.
 50. Costela JL, Jiménez R, Calvo R, Suárez E, Carlos R. (1996) Serum protein binding of propofol in patients with renal failure or hepatic cirrhosis. *Acta Anaesthesiol Scand*, 40(6):741-5.

51. Court MH, Duan SX, Hesse LM, Venkatakrisnan K, Greenblatt DJ. (2001) Cytochrome P-450 2B6 is responsible for interindividual variability of propofol hydroxylation by human liver microsomes. *Anesthesiology*, 94(1):110-9.
52. Court MH, Greenblatt DJ. (1997) Molecular Basis for Deficient Acetaminophen Glucuronidation in Cats. *Biochemical Pharmacology*, 53:1041-1047.
53. Court MH, Greenblatt DJ. (2000) Molecular genetic basis for deficient acetaminophen glucuronidation by cats: UGT1A6 is a pseudogene, and evidence for reduced diversity of expressed hepatic UGT1A isoforms. *Pharmacogenetics*, 10:355-369.
54. Court MH, Hay-Kraus BL, Hill DW, Kind AJ, Greenblatt DJ. (1999) Propofol hydroxylation by dog liver microsomes: assay development and dog breed differences. *Drug Metab Dispos*, 27(11):1293-9.
55. Cullen LK, Reynoldson JA. (1993) Xylazine or medetomidine premedication before propofol anaesthesia. *Vet Rec*, 132(15):378-83.
56. Cummings GC, Dixon J, Kay NH, Windsor JP, Major E, Morgan M, Sear JW, Spence AA, Stephenson DK. (1984) Dose requirements of ICI 35,868 (propofol, "Diprivan") in a new formulation for induction of anaesthesia. *Anaesthesia*, 39:1168-71.
57. Daunt DA, Dunlop CI, Chapman PL, Shafer SL, Ruskoaho H, Vakkuri O, Hodgson DS, Tyler LM, Maze M. (1993) Cardiopulmonary and behavioral responses to computer-driven infusion of detomidine in standing horses. *Am J Vet Res*, 54(12):2075-82.
58. Davidson JA, Macleod AD, Howie JC, White M, Kenny GN. (1993) Effective concentration 50 for propofol with and without 67% nitrous oxide. *Acta Anaesthesiol Scand*, 37(5):458-64.
59. Davies B. (1993) Physiological parameters in laboratory animals and humans, *Pharmaceutical Research*, 10: 1093-1095.
60. Davies C, Hall LW. (1991) Propofol and excitatory sequelae in dogs. *Anaesthesia*, 46(9):797-8.
61. Davis LE, Westfall BA. (1972) Species differences in biotransformation and excretion of salicylate. *Am J Vet Res*, 33:1253-62.
62. Davis PJ, Cook DR. (1986) Clinical pharmacokinetics of the newer intravenous anaesthetic agents. *Clin Pharmacokinet*, 11(1):18-35.
63. Dawidowicz AL, Fornal E, Mardarowicz M, Fijalkowska A. (2000) The role of human lungs in the biotransformation of propofol. *Anesthesiology*, 93(4):992-7.

64. De Gasperi A, Mazza E, Noè L, Corti A, Cristalli A, Prosperi M, Sabbadini D, Savi MC, Vai S. (1996) Pharmacokinetic profile of the induction dose of propofol in chronic renal failure patients undergoing renal transplantation. *Minerva Anesthesiol*, 62(1-2):25-31.
65. Dixon J, Roberts FL, Tackley RM, Lewis GT, Connell H, Prys-Roberts C. (1990) Study of the possible interaction between fentanyl and propofol using a computer-controlled infusion of propofol. *Br J Anaesth*, 64(2):142-7.
66. Du Souich P, Verges J, Erill S. (1993) Plasma protein binding and pharmacological response. *Clin Pharmacokinet*, 24(6):435-40.
67. Duke T, Egger CM, Ferguson JG, Frketic MM. (1997) Cardiopulmonary effects of propofol infusion in llamas. *Am J Vet Res*, 58(2):153-6.
68. Dutta S, Ebling WF. (1998) Formulation-dependent pharmacokinetics and pharmacodynamics of propofol in rats. *Journal of Pharmacy & Pharmacology*, 50(1):37-42.
69. Dutta, S, Matsumoto, Y. and Ebling, W. F. (1997) Propofol pharmacokinetics and pharmacodynamics assessed from a cremophor EL formulation. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 86: 967–969.
70. Ebert TJ, Muzi M, Berens R, Goff D, Kampine JP. (1992) Sympathetic responses to induction of anesthesia in humans with propofol or etomidate. *Anesthesiology*. 76(5):725-33.
71. Egan TD. (1996) Intravenous drug delivery systems: toward an intravenous "vaporizer". *J Clin Anesth*, 8:8S-14S.
72. Egan TD. (2003) Target-controlled drug delivery: progress toward an intravenous "vaporizer" and automated anesthetic administration. *Anesthesiology*, 99(5):1214-9.
73. Favetta P, Degoute CS, Perdrix JP, Dufresne C, Bouliou R, Guitton J. (2002) Propofol metabolites in man following propofol induction and maintenance, *British Journal of Anaesthesia*, 88(5):653-8.
74. Fisher DM. (1996) (Almost) everything you learned about pharmacokinetics was (somewhat) wrong! *Anesth Analg*, 83(5):901-3.
75. Flecknell PA. (2009) Special techniques. In: *Laboratory animal anaesthesia*. Elsevier Ed. Amsterdam, 117.
76. Fragen RJ. Infusions of intravenous anaesthetics. In *Drug Infusions in Anaesthesiology*. Ed. RJ Fragen. New York, Raven Press. 1991:63-84.
77. Geel JK. (1991) The effect of premedication on the induction dose of propofol in dogs and cats. *J S Afr Vet Assoc*, 62(3):118-23.

78. Gepts E. (1998) Pharmacokinetic concepts for TCI anaesthesia. *Anaesthesia*, 53(1):4-12.
79. Glass PS, Doherty D, Jacobs JR, Quill TJ. (1991) Pharmacokinetic basis of intravenous drug delivery. *Baill. Clin. Anaesth*, 5(3):735-775.
80. Glen JB, Hunter SC. (1984) "Diprivan": an update, *Journal of the Association of Veterinary Anaesthetists of Great Britain and Ireland*, 12:40-47.
81. Glen JB, Hunter SC. (1984) Pharmacology of an emulsion formulation of ICI 35 868. *Br J Anaesth*, 56(6):617-26.
82. Glen JB. (1980) Animal studies of the anaesthetic activity of ICI 35 868. *British Journal of Anaesthesia*, 52:731-742
83. Glen JB. (1998) The development of 'Diprifusor': a TCI system for propofol. *Anaesthesia*, 53 Suppl 1:13-21.
84. Glen JB. The Development and Future of TCI. In "Advances in modelling and clinical application of intravenous anaesthesia". Ed. VuyK e Schraag, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York 2003; 123-134.
85. Glowaski MM, Wetmore LA. (1999) Propofol: application in veterinary sedation and anesthesia. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 14(1):1-9.
86. Gómez-Villamandos RJ, Palacios C, Benítez A, Granados MM, Domínguez JM, López I, Ruiz I, Aguilera E, Santisteban JM. (2006) Dexmedetomidine or medetomidine premedication before propofol-desflurane anaesthesia in dogs. *J Vet Pharmacol Ther*, 29(3):157-63.
87. Gómez-Villamandos RJ, Redondo JI, Martín EM, Domínguez JM, Granados MM, Estepa JC, Ruiz I, Aguilera E, Santisteban JM. (2005) Romifidine or medetomidine premedication before propofol-sevoflurane anaesthesia in dogs. *J Vet Pharmacol Ther*, 28(5):489-93.
88. Goodchild CS, Serrao JM. (1989) Cardiovascular effects of propofol in the anaesthetized dog. *Br J Anaesth*, 63(1):87-92.
89. Gray PA, Park GR, Cockshott ID, Douglas EJ, Shuker B, Simons PJ. (1992) Propofol metabolism in man during the anhepatic and reperfusion phases of liver transplantation, *Xenobiotica*, 22: 105-114.
90. Greenway C.V , Oshiro G. (1972) Comparison of the effects of hepatic nerve stimulation on arterial flow, distribution of arterial and portal flows and blood content in the live of anaesthetized cats and dogs. *Journal of Physiology*, 227:487-501.
91. Guntheroth WG, Mullins GL. (1963) Liver and spleen as venous reservoirs. *Am J Physiol*, 204: 35-41

92. Hacker SO, White CE, Black IH. (2008) Target-controlled infusion versus manually-controlled infusion of propofol for general anaesthesia or sedation in adults. Leslie K, Clavisi O, Hargrove J. *Cochrane Database Syst Rev*, (3):CD006059. Review.
93. Hall LW, Lagerweij E, Nolan AM, Sear JW. (1994) Effect of medetomidine on the pharmacokinetics of propofol in dogs. *Am J Vet Res*, 55(1):116-20.
94. Hans GA, Lauwick SM, Kaba A, Bonhomme V, Struys MM, Hans PC, Lamy ML, Joris JL. (2010) Intravenous lidocaine infusion reduces bispectral index-guided requirements of propofol only during surgical stimulation. *Br J Anaesth*, 105(4):471-9.
95. Harvey W. (1628) *Exercitatio Anatomica de Motu Cordis et Sanguinis*. Francoforte-The Warnock Library. Da: <http://www.rarebookroom.org/Control/hvyexc/index.html>.
96. Hawkins MG, Wright BD, Pascoe PJ, Kass PH, Maxwell LK, Tell LA. (2003) Pharmacokinetics and anesthetic and cardiopulmonary effects of propofol in red-tailed hawks (*Buteo jamaicensis*) and great horned owls (*Bubo virginianus*). *Am J Vet Res*, 64(6):677-83.
97. Hay-Kraus BL, Greenblatt DJ, Venkatakrishnan K, Court MH. (2000) Evidence for propofol hydroxylation by cytochrome P4502B11 in canine liver microsomes: breed and gender differences. *Xenobiotica*, 30(6):575-88.
98. He YL, Ueyama H, Tashiro C, Mashimo T, Yoshiya I. (2000) Pulmonary disposition of propofol in surgical patients. *Anesthesiology*, 93(4):986-91.
99. Heldmann E, Holt DE, Brockman DJ, Brown DC, Perkowski SZ. (1999) Use of propofol to manage seizure activity after surgical treatment of portosystemic shunts. *J Small Anim Pract*, 40(12):590-4.
100. Hiraoka H, Yamamoto K, Miyoshi S, Morita T, Nakamura K, Kadoi Y, Kunimoto F, Horiuchi R. (2005) Kidneys contribute to the extrahepatic clearance of propofol in humans, but not lungs and brain. *Br J Clin Pharmacol*, 60(2):176-82.
101. Hiraoka H, Yamamoto K, Okano N, Morita T, Goto F, Horiuchi R. (2004) Changes in drug plasma concentrations of an extensively bound and highly extracted drug, propofol, in response to altered plasma binding. *Clin Pharmacol Ther*, 75(4):324-30.
102. Hughes MA, Glass PS, Jacobs JR. (1992) Context-sensitive half-time in multicompartment pharmacokinetic models for intravenous anesthetic drugs. *Anesthesiology*, 76(3):334-41.

103. Ilkiw JE, Pascoe PJ, Fisher LD. (1997) Effect of alfentanil on the minimum alveolar concentration of isoflurane in cats. *Am J Vet Res*, 58(11):1274-9.
104. Ilkiw JE, Pascoe PJ, Haskins SC, Patz JD. (1992) Cardiovascular and respiratory effects of propofol administration in hypovolemic dogs. *Am J Vet Res*, 53(12):2323-7.
105. Ilkiw JE, Pascoe PJ. (2003) Cardiovascular effects of propofol alone and in combination with ketamine for total intravenous anesthesia in cats. *Am J Vet Res*, 64(7):913-7.
106. Irwin MG, Trinh T, Yao CL. (2009) Occupational exposure to anaesthetic gases: a role for TIVA. *Expert Opin Drug Saf*, 8(4):473-83.
107. James R, Glen JB. (1980) Synthesis, biological evaluation, and preliminary structure-activity considerations of a series of alkylphenols as intravenous anesthetic agents. *J Med Chem*, 23:1350-7.
108. JE Ilkiw, PJ Pascoe. (2003) Cardiovascular effects of propofol alone and in combination with ketamine for total intravenous anesthesia in cats. *Am J Vet Res*, 64:913-7.
109. Johnson LR, Drazenovich TL. (2007) Flexible bronchoscopy and bronchoalveolar lavage in 68 cats (2001-2006). *J Vet Intern Med*, 21(2):219-25.
110. Joubert KE, Picard J, Sethusa M. (2005) Inhibition of bacterial growth by different mixtures of propofol and thiopentone. *J S Afr Vet Assoc*, 76(2):85-9.
111. Kanto J, Gepts E. (1989) Pharmacokinetic implications for the clinical use of propofol. *Clinical Pharmacokinetics*, 17(5):308-326.
112. Kanto JH. (1988) Propofol, the newest induction agent of anesthesia. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol*, 26(1):41-57.
113. Kay B, Rolly G. (1977) ICI 35868, a new intravenous induction agent. *Acta Anaesthesiol Belg*, 28:303-16
114. Kay NH, Sear JW, Uppington J, Cockshott ID, Douglas EJ. (1986) Disposition of propofol in patients undergoing surgery. A comparison in men and women. *Br J Anaesth*, 58(10):1075-9.
115. Kay NH, Uppington J, Sear JW, Douglas EJ, Cockshott ID. (1985) Pharmacokinetics of propofol ('Diprivan') as an induction agent. *Postgrad Med J*, 61:55-7.

116. Kazama T, Ikeda K, Morita K, Ikeda T, Kikura M, Sato S. (2001) Relation between initial blood distribution volume and propofol induction dose requirement. *Anesthesiology*, 94(2):205-10.
117. Kazama T, Ikeda K, Morita K, Katoh T, Kikura M. (1998) Propofol concentration required for endotracheal intubation with a laryngoscope or fiberoptic and its interaction with fentanyl. *Anesth Analg*, 86(4):872-9.
118. Kazama T, Ikeda K, Morita K, Kikura M, Ikeda T, Kurita T, Sato S. (2000) Investigation of effective anesthesia induction doses using a wide range of infusion rates with undiluted and diluted propofol. *Anesthesiology*, 92(4):1017-28.
119. Kazama T, Ikeda K, Morita K, Kikura M, Ikeda T, Kurita T, Sato S. (2000) Investigation of effective anesthesia induction doses using a wide range of infusion rates with undiluted and diluted propofol. *Anesthesiology*, 92(4):1017-1028.
120. Kinabo LD, McKellar QA. (1989) Current models in pharmacokinetics: applications in veterinary pharmacology. *Vet Res Commun*, 13(2):141-57.
121. Kirkpatrick T, Cockshott ID, Douglas EJ, Nimmo WS. (1988) Pharmacokinetics of propofol (diprivan) in elderly patients. *Br J Anaesth*, 60(2):146-50
122. Kirvelä M, Olkkola KT, Rosenberg PH, Yli-Hankala A, Salmela K, Lindgren L. (1992) Pharmacokinetics of propofol and haemodynamic changes during induction of anaesthesia in uraemic patients. *Br J Anaesth*, 68(2):178-82.
123. Klement W, Arndt JO (1991) Pain on injection of propofol, effects of concentration and diluent. *Br J Anaesth*, 67:281-284.
124. Ko YP, Hsu YW, Hsu K, Tsai HJ, Huang CJ, Chen CC. (2007) Simulation analysis of the performance of target-controlled infusion of propofol in Chinese patients. *Acta Anaesthesiol Taiwan*, 45(3):141-7.
125. Korman B, Jennings LS, Rigg JR. (1998) Rapid attainment of steady state plasma drug concentrations within precise limits. *J Pharmacokinetic Biopharm*, 26(3):319-28.
126. Krejcie TC, Avram MJ. (1999) What determines anesthetic induction dose? It's the front-end kinetics, doctor! *Anesth Analg*, 89(3):541-4.
127. Krejcie TC, Henthorn TK, Niemann CU, Klein C, Gupta DK, Gentry WB, Shanks CA, Avram MJ. (1996) Recirculatory pharmacokinetic models of markers of blood, extracellular fluid and total body water administered concomitantly. *J Pharmacol Exp Ther*, 278:1050-7.

128. Kreuer S, Schreiber JU, Bruhn J, Wilhelm W. (2005) Impact of patient age on propofol consumption during propofol-remifentanyl anaesthesia. *Eur J Anaesthesiol*, 22(2):123-8.
129. Krüger-Thiemer E. (1968) Continuous intravenous infusion and multicompartment accumulation. *Eur J Pharmacol*, 4(3):317-24.
130. Kuipers JA, Boer F, Olieman W, Burm AG, Bovill JG. (1999a) First-pass lung uptake and pulmonary clearance of propofol: assessment with a recirculatory indocyanine green pharmacokinetic model. *Anesthesiology*, 91(6):1780-7.
131. Kuipers JA, Boer F, Olofsen E, Olieman W, Vletter AA, Burm AG, Bovill JG. (1999b) Recirculatory and compartmental pharmacokinetic modeling of alfentanil in pigs: the influence of cardiac output. *Anesthesiology*, 90(4):1146-57.
132. Langley MS, Heel RC. (1988) Propofol. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and use as an intravenous anaesthetic. *Drugs*, 35(4):334-72.
133. Larsen JA. (1963a) Elimination of ethanol as a measure of the hepatic blood flow in the cat. I. Experiments with single injection of ethanol. *Acta physiol. Scand*, 57:201-208.
134. Larsen JA. (1963b) Elimination of ethanol as a measure of the hepatic blood flow in the cat. II. The significance of the extrahepatic elimination of ethanol. *Acta physiol. Scand*, 57:209-223.
135. Lascelles BD, Court MH, Hardie EM, Robertson SA. (2007) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in cats: a review. *Vet Anaesth Analg*, 34(4):228-50.
136. Le Guellec C, Lacarelle B, Villard PH, Point H, Catalin J, Durand A. (1995) Glucuronidation of propofol in microsomal fractions from various tissues and species including humans: effect of different drugs. *Anesth Analg*, 81(4):855-61.
137. Levionnois OL, Mevissen M, Thormann W, Spadavecchia C. (2010) Assessing the efficiency of a pharmacokinetic-based algorithm for target-controlled infusion of ketamine in ponies. *Res Vet Sci*, 88(3):512-8.
138. Levitt DG, Schnider TW (2005) Human Physiological Based Pharmacokinetic Model for Propofol, *BMC Anesthesiology*.
139. Li YH, Rui JZ, Zhou YG, Wang LQ, Fu SE, Yang JJ, Liu FK, Hu SY, Wen Q, Xu JG. (2003) Population pharmacokinetics of propofol in Chinese patients. *Acta Pharmacol Sin*, 24(6):581-8.

140. Li YH, Xu JH, Yang JJ, Tian J, Xu JG. (2005) Predictive performance of 'Diprifusor' TCI system in patients during upper abdominal surgery under propofol/fentanyl anesthesia. *J Zhejiang Univ Sci B*, 6(1):43-8.
141. Liehmann L, Mosing M, Auer U. (2006) A comparison of cardiorespiratory variables during isoflurane-fentanyl and propofol-fentanyl anaesthesia for surgery in injured cats. *Vet Anaesth Analg*, 33(3):158-68.
142. Lorenz IH, Kolbitsch C, Lass-Flörl C, Gritzniq I, Vollert B, Lingnau W, Moser PL, Benzer A. (2002) Routine handling of propofol prevents contamination as effectively as does strict adherence to the manufacturer's recommendations. *Can J Anaesth*, 49(4):347-52.
143. Ludbrook GL, Upton RN, Grant C, Grépinet A. (1996) Brain and blood concentrations of propofol after rapid intravenous injection in sheep, and their relationships to cerebral effects. *Anaesthesia & Intensive Care*, 24:445-452.
144. Ludbrook GL, Upton RN. (1997) A physiological model of induction of anaesthesia with propofol in sheep. 2. Model analysis and implications for dose requirements. *Br J Anaesth*, 79(4):505-13.
145. Luo AL, Yi J, Guo XY, Ren HZ, Huang YG, Ye TH. (2004) Concentrations of propofol in cerebral spinal fluid: target-controlled infusion. *Chin Med J (Engl)*, 117(2):231-4.
146. Machin KL, Caulkett NA. (1998) Cardiopulmonary effects of propofol and a medetomidine-midazolam-ketamine combination in mallard ducks. *Am J Vet Res*, 59(5):598-602.
147. Macquaire V, Cantraine F, Schmartz D, Coussaert E, Barvais L. (2002) Target-controlled infusion of propofol induction with or without plasma concentration constraint in high-risk adult patients undergoing cardiac surgery. *Acta Anaesthesiol Scand*, 46(8):1010-6.
148. Mair AR, Pawson P, Courcier E, Flaherty D. (2009) A comparison of the effects of two different doses of ketamine used for co-induction of anaesthesia with a target-controlled infusion of propofol in dogs. *Vet Anaesth Analg*, 36(6):532-8.
149. Mama KR, Steffey EP, Pascoe PJ. (1995) Evaluation of propofol as a general anesthetic for horses. *Vet Surg*, 24(2):188-94.
150. Mandsager RE, Clarke CR, Shawley RV, Hague CM. (1995) Effects of chloramphenicol on infusion pharmacokinetics of propofol in greyhounds. *Am J Vet Res*, 56(1):95-9.
151. Mangar D, Holak EJ. (1992) Tourniquet at 50 mm Hg followed by intravenous lidocaine diminishes hand pain associated with propofol injection. *Anesth Analg*, 74(2):250-252.

152. Masui K, Upton RN, Doufas AG, Coetzee JF, Kazama T, Mortier EP, Struys MM. (2010) The performance of compartmental and physiologically based recirculatory pharmacokinetic models for propofol: a comparison using bolus, continuous, and target-controlled infusion data. *Anesth Analg*, 111(2):368-79. Epub 2009 Oct 27.
153. Matot I, Neely CF, Katz RY, Marshall BE. (1994) Fentanyl and propofol uptake by the lung: effect of time between injections. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 38(7):711-5.
154. Matot I, Neely CF, Katz RY, Neufeld GR. (1993) Pulmonary uptake of propofol in cats. Effect of fentanyl and halothane. *Anesthesiology*, 78(6):1157-65.
155. Matthews NS, Hartsfield SM, Hague B, Carroll GL, Short CE. (1999) Detomidine-propofol anesthesia for abdominal surgery in horses. *Vet Surg*, 28(3):196-201.
156. Mazoit JX, Samii K. (1999) Binding of propofol to blood components: implications for pharmacokinetics and for pharmacodynamics. *Br J Clin Pharmacol*, 47:35-42.
157. McCormack J, Mehta D, Peiris K, Dumont G, Fung P, Lim J, Ansermino JM. (2010) The effect of a target controlled infusion of propofol on predictability of recovery from anesthesia in children. *Paediatr Anaesth*, 20(1):56-62.
158. McCulloch MJ, Lees NW. (1985) Assessment and modification of pain on induction with propofol (Diprivan). *Anaesthesia*, 40(11):1117-20.
159. Mendes GM, Selmi AL. (2003) Use of a combination of propofol and fentanyl, alfentanil, or sufentanil for total intravenous anesthesia in cats. *J Am Vet Med Assoc*, 223(11):1608-13.
160. Merin RG, Hoffman WL, Kraus AL. (1977) The role of the canine spleen in cardiovascular homeostasis during halothane anesthesia. *Circ Shock*, 4:241-246.
161. Miller DR. (1994) Intravenous infusion anaesthesia and delivery devices. *Can J Anaesth*, 41(7):639-51.
162. Miller JJ, Powell GM, Olavesen AH, Curtis CG. (1973) The metabolism and toxicity of phenols in cats. *Biochem Soc Trans*, 1:1163-65.
163. Miller RS, Peterson GM, McLean S, Möller C. (1997) Effect of cardiopulmonary bypass on the plasma concentrations of fentanyl and alcuronium. *J Clin Pharm Ther*, 22(3):197-205.
164. Milne SE, Kenny GN. (1998a) Future applications for TCI systems. *Anaesthesia*, 53(1):56-60.

165. Milne SE, Kenny GN. (1998b) Target controlled infusions. *Curr. Anaesth. Crit. Care*, 9:174-179.
166. Mirakhur RK. (1988) Induction characteristics of propofol in children: comparison with thiopentone. *Anaesthesia*, 43(7):593-598.
167. Morey TE, Modell JH, Shekhawat D, Shah DO, Klatt B, Thomas GP, Kero FA, Booth MM, Dennis DM. (2006) Anesthetic properties of a propofol microemulsion in dogs. *Anesth Analg*, 103(4):882-7.
168. Morgan DW, Legge K. (1989) Clinical evaluation of propofol as an intravenous anaesthetic agent in cats and dogs. *The Veterinary Record*, 124:31-33.
169. Morgan M. (1983) Total intravenous anaesthesia. *Anaesthesia*, 38:1-9.
170. Muir WW 3rd, Gadawski JE. (1998) Respiratory depression and apnea induced by propofol in dogs. *Am J Vet Res*, 59(2):157-61.
171. Murayama T, Sato Y, Wainai T, Enomoto A, Seo N, Yoshino H, Kobayashi E. (2005) Effect of continuous infusion of propofol on its concentration in blood with and without the liver in pigs. *Transplant Proc*, 37(10):4567-70.
172. Musk GC, Flaherty DA. (2007) Target-controlled infusion of propofol combined with variable rate infusion of remifentanyl for anaesthesia of a dog with patent ductus arteriosus. *Vet Anaesth Analg*, 34(5):359-64.
173. Musk GC, Pang DS, Beths T, Flaherty DA. (2005) Target-controlled infusion of propofol in dogs--evaluation of four targets for induction of anaesthesia. *Vet Rec*, 157(24):766-70.
174. Nathan N, Debord J, Narcisse F, Dupuis JL, Lagarde M, Benevent D, Lachatre G, Feiss P. (1993) Pharmacokinetics of propofol and its conjugates after continuous infusion in normal and in renal failure patients: a preliminary study. *Acta Anaesthesiol Belg*, 44(3):77-85.
175. Nolan A, Reid J, Welsh E, Flaherty D, McCormack R, Monteiro AM. (1996) Simultaneous infusions of propofol and ketamine in ponies premedicated with detomidine: a pharmacokinetic study. *Res Vet Sci*, 60(3):262-6.
176. Nolan A, Reid J. (1993) Pharmacokinetics of propofol administered by infusion in dogs undergoing surgery. *Br J Anaesth*, 70(5):546-51.
177. Nolan AM, Hall LW. (1985) Total intravenous anaesthesia in the horse with propofol. *Equine Vet J*, 17(5):394-8.

178. Nolan AM, Reid J, Grant S. (1993) The effects of halothane and nitrous oxide on the pharmacokinetics of propofol in dogs. *J Vet Pharmacol Ther*, 16(3):335-42.
179. Novello L, Carobbi B. (2010) Survey of the current use of pharmacokinetic model-driven drug delivery in small animal anaesthesia and analgesia in Italy. *Vet Rec*, 167:784788.
180. Oei-Lim VL, White M, Kalkman CJ, Engbers FH, Makkes PC, Ooms WG. (1998) Pharmacokinetics of propofol during conscious sedation using target-controlled infusion in anxious patients undergoing dental treatment. *Br J Anaesth*, 80(3):324-31.
181. Oku K, Ohta M, Yamanaka T, Mizuno Y, Fujinaga T. (2005) The minimum infusion rate (MIR) of propofol for total intravenous anesthesia after premedication with xylazine in horses. *J Vet Med Sci*, 67(6):569-75.
182. Ouattara A, Boccara G, Lemaire S, Kockler U, Landi M, Vaissier E, Leger P, Coriat P. (2003) Target-controlled infusion of propofol and remifentanyl in cardiac anaesthesia: influence of age on predicted effect-site concentrations. *Br. J. Anaesth*, 90(5):617-622.
183. Padfield NL. (2000a) Introduction, history and development. In *Total Intravenous Anaesthesia*. NL Padfield edr, Butterworth-Heinemann, Oxford, 68-86.
184. Padfield NL. (2000b) Administration of intravenous anaesthesia/total intravenous anaesthesia. In *Total Intravenous Anaesthesia*. NL Padfield edr, Butterworth-Heinemann, Oxford, 3-12.
185. Pagel PS, Warltier DC. (1993) Negative inotropic effects of propofol as evaluated by the regional preload recruitable stroke work relationship in chronically instrumented dogs. *Anesthesiology*, 78(1):100-8.
186. Pascoe PJ, Steffey EP, Black WD, Claxton JM, Jacobs JR, Woliner MJ. (1993) Evaluation of the effect of alfentanil on the minimum alveolar concentration of halothane in horses. *Am J Vet Res*, 54(8):1327-32.
187. Pascoe PJ. (2006) The effect of the duration of propofol administration on recovery from anesthesia in cats. *Veterinary Anaesthesia & Analgesia*, 33:2-7.
188. Péan D, Floch H, Beliard C, Piot B, Testa S, Bazin V, Lejus C, Asehnoune K. (2010) Propofol versus sevoflurane for fiberoptic intubation under spontaneous breathing anesthesia in patients difficult to intubate. *Minerva Anesthesiol*, 76(10):780-6.
189. Perry SM, Whelan E, Shay S, Wood AJ, Wood M. (1991) Effect of i.v. anaesthesia with propofol on drug distribution and metabolism in the dog. *Br J Anaesth*, 66(1):66-72.

190. Pilla T, Franci P, Meneghini C, Mollo A, Montesissa C, Busetto R. (2010) Anestesia tramite Target Controlled Infusion di Propofol nel gatto. Un caso pilota. In: Atti XVII Congresso Soc. It. di Chir. Vet. Olbia, 24-26 giugno 2010.
191. Plummer GF. (1987) Improvement method for the determination of propofol in blood by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography*, 421:171-176.
192. Ponte J, Sadler CL. (1989) Effect of thiopentone, etomidate and propofol on carotid body chemoreceptor activity in the rabbit and the cat. *Br J Anaesth*, 62(1):41-5.
193. Quandt JE, Robinson EP, Rivers WJ, Raffe MR. (1998) Cardiorespiratory and anesthetic effects of propofol and thiopental in dogs. *Am J Vet Res*, 59(9):1137-43.
194. Quinn AC, Newman PJ, New LC, Grounds RM. (1993) Clinical significance of the growth of micro-organisms in propofol. *Anaesthesia*, 48(10):923.
195. Raemer DB, Buschman A, Johnson MD, Philip BK, Shafer SL, Stanski DR. (1988) Alfentanil pharmacokinetic model applied to ambulatory surgical patients: Does a computerized infusion improve predictability? *Anesthesiology*, 69:A243.
196. Rai MR, Parry TM, Dombrovskis A, Warner OJ. (2008) Remifentanil target-controlled infusion vs propofol target-controlled infusion for conscious sedation for awake fiberoptic intubation: a double-blinded randomized controlled trial. *Br J Anaesth*, 100(1):125-30.
197. Raouf AA, van Obbergh LJ, de Ville de Goyet J, Verbeeck RK. (1996) Extrahepatic glucuronidation of propofol in man: possible contribution of gut wall and kidney. *Eur J Clin Pharmacol*, 50(1-2):91-6.
198. Reekers M, Boer F, Vuyk J. Basic concepts of recirculatory pharmacokinetic modelling. In "Advances in modelling and clinical application of intravenous anaesthesia". Ed. Vuyk e Schraag, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York 2003; 19-22.
199. Rehberg B, Ryll C, Hadzidiakos D, Baars J. (2007) Use of a target-controlled infusion system for propofol does not improve subjective assessment of anaesthetic depth by inexperienced anaesthesiologists. *Eur J Anaesthesiol*, 24(11):920-6.
200. Reid J, Nolan AM, Welsh E. (1993) Propofol as an induction agent in the goat: a pharmacokinetic study. *J Vet Pharmacol Ther*, 16(4):488-93.

201. Reid J, Nolan AM. (1993) Pharmacokinetics of propofol in dogs premedicated with acepromazine and maintained with halothane and nitrous oxide. *J Vet Pharmacol Ther*, 16(4):501-5.
202. Robertson SA, Johnston S, Beemsterboer J. (1992) Cardiopulmonary, anesthetic, and postanesthetic effects of intravenous infusions of propofol in greyhounds and non-greyhounds. *Am J Vet Res*, 53(6):1027-32.
203. Robinson D, Williams RT. (1958) Do cats form glucuronides? *Biochem J*, 68:23-24.
204. Russell D. (1998) Intravenous anaesthesia: manual infusion schemes versus TCI systems. *Anaesthesia*, 53 Suppl 1:42-5.
205. Ryu JH, So YM, Hwang JW, Do SH. (2010) Optimal target concentration of remifentanyl during cataract surgery with monitored anesthesia care. *J Clin Anesth*, 22(7):533-7.
206. Sano T, Nishimura R, Mochizuki M, Sasaki N. (2003) Effects of midazolam-butorphanol, acepromazine-butorphanol and medetomidine on an induction dose of propofol and their compatibility in dogs. *J Vet Med Sci*, 65(10):1141-3.
207. Savides M, Oehme F, Nash S, Leipold HW. (1984) The toxicity and biotransformation of single doses of acetaminophen in dogs and cats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 74:26-34.
208. Schumacher J, Citino SB, Hernandez K, Hutt J, Dixon B. (1997) Cardiopulmonary and anesthetic effects of propofol in wild turkeys. *Am J Vet Res*, 58(9):1014-7.
209. Schuttler J, Ihmsen H. (2000) Population pharmacokinetics of propofol: a multicenter study. *Anesthesiology*, 92: 727-738.
210. Schüttler J, Kloos S, Schwilden H, Stoeckel H. (1988) Total intravenous anaesthesia with propofol and alfentanil by computer-assisted infusion. *Anaesthesia*, 43 Suppl:2-7.
211. Schüttler J, Stoeckel H, Schwilden H. (1985) Pharmacokinetic and pharmacodynamic modelling of propofol ('Diprivan') in volunteers and surgical patients. *Postgrad Med J*, 61 S3:53-4.
212. Schwilden H, Schüttler J. (2008) Target controlled anaesthetic drug dosing. *Handb Exp Pharmacol*, 182:425-50.
213. Schwilden H. (1981) A general method for calculating the dosage scheme in linear pharmacokinetics, *Eur. J. Clin. Pharmacol*, 20:379-386
214. Scott RP, Saunders DA, Norman J. (1988) Propofol: clinical strategies for preventing the pain of injection. *Anaesthesia*, 43(6):492-494.

215. Sebel PS, Lowdon JD. (1989) Propofol: a new intravenous anesthetic. *Anesthesiology*, 71(2):260-77.
216. Sellgren J, Ejnell H, Elam M, Pontén J, Wallin BG. (1994) Sympathetic muscle nerve activity, peripheral blood flows, and baroreceptor reflexes in humans during propofol anesthesia and surgery. *Anesthesiology*, 80(3):534-44.
217. Shafer A, Doze VA, Shafer SL, White PF. (1988) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of propofol infusions during general anesthesia. *Anesthesiology*, 69(3):348-56.
218. Shafer SL. (1993) Advances in propofol pharmacokinetics and pharmacodynamics, *Journal of Clinical Anesthesia*, 5:14S-21S.
219. Short CE, Bufalari A. (1999) Propofol anesthesia. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 29(3):747-78.
220. Short TG, Lim TA, Tam YH. (1996) Prospective evaluation of pharmacokinetic model-controlled infusion of propofol in adult patients. *Br J Anaesth*, 76(2):313-5.
221. Simons PJ, Cockshott ID, Douglas EJ, Gordon EA, Knott S, Ruane RJ. (1991) Species differences in blood profiles, metabolism and excretion of ¹⁴C- propofol after intravenous dosing to rat, dog and rabbit, *Xenobiotica*, 21(10):1243-1256.
222. Simons PJ, Cockshott ID, Douglas EJ, Hopkins K, Rowland M. (1988) Disposition in male volunteers of a subanaesthetic intravenous dose of an oil in water emulsion of ¹⁴C-propofol, *Xenobiotica*, 18: 429-440.
223. Slepchenko G, Simon N, Goubaux B, Levron JC, Le Moing JP, Raucoules-Aimé M. (2003) Performance of target-controlled sufentanil infusion in obese patients. *Anesthesiology*, 98(1):65-73.
224. Smedile LE, Duke T, Taylor SM. (1996) Excitatory movements in a dog following propofol anesthesia. *J Am Anim Hosp Assoc*, 32(4):365-8.
225. Smith FD. (2010) Management of exposure to waste anesthetic gases. *AORN J*, 91(4):482-94.
226. Smith I, White PF, Nathanson M, Gouldson R. (1994) Propofol. An update on its clinical use. *Anesthesiology*, 81(4):1005-43.
227. Smith I, White PF. Historical and scientific background of intravenous anaesthesia. In *Total Intravenous Anaesthesia*, 1st edn, C. E. W. Hahn and A. P. Adams, eds, BMJ Books, 1998a, London: 1-17.

228. Smith I, White PF. Intravenous anaesthesia delivery and monitoring systems. In *Total Intravenous Anaesthesia*, 1st edn, C. E. W. Hahn and A. P. Adams, eds, BMJ Books, 1998c, London: 98-127.
229. Smith I, White PF. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of drugs used in total intravenous anaesthesia. In *Total Intravenous Anaesthesia*, 1st edn, C. E. W. Hahn and A. P. Adams, eds, BMJ Books, 1998b, London: 29-80.
230. Smith I, White PF. Use of intravenous anaesthesia techniques in special patient populations. In *Total Intravenous Anaesthesia*, 1st edn, C. E. W. Hahn and A. P. Adams, eds, BMJ Books, 1998d, London: 81-97.
231. Smith JA, Gaynor JS, Bednarski RM, Muir WW. (1993) Adverse effects of administration of propofol with various preanesthetic regimens in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 202(7):1111-5.
232. Snellen F, Lauwers P, Demeyere R, Byttebier G, Van Aken H. (1990) The use of midazolam versus propofol for short-term sedation following coronary artery bypass grafting. *Intensive Care Med*, 16(5):312-6.
233. Sneyd JR, Rigby-Jones AE. (2010) New drugs and technologies, intravenous anaesthesia is on the move (again). *Br J Anaesth*, 105(3):246-54.
234. Sosis MB, Braverman B, Villaflor E. (1995) Propofol, but not thiopental, supports the growth of *Candida albicans*. *Anesth Analg*, 81(1):132-4.
235. Sosis MB, Braverman B. (1993) Growth of *Staphylococcus aureus* in four intravenous anesthetics. *Anesth Analg*, 77(4):766-8.
236. Steffey, E.P. Howland, D. Jr. (1977) Isoflurane Potency in the Dog and Cat. *Am. J. Vet. Res*, 38(11): 1833-1836.
237. Stegmann GF, Bester L. (2001) Some clinical effects of midazolam premedication in propofol-induced and isoflurane-maintained anaesthesia in dogs during ovariohysterectomy. *J S Afr Vet Assoc*, 72(4):214-6.
238. Strachan FA, Mansel JC, Clutton RE. (2008) A comparison of microbial growth in alfaxalone, propofol and thiopental. *J Small Anim Pract*, 49(4):186-90.
239. Struys M, Versichelen L, Rolly G. (1998) Influence of pre-anaesthetic medication on target propofol concentration using a 'Diprifusor' TCI system during ambulatory surgery. *Anaesthesia*, 53 Suppl 1:68-71.
240. Struys M, Versichelen L, Thas O, Herregods L, Rolly G. (1997) Comparison of computer-controlled administration of propofol with two manually controlled infusion techniques. *Anaesthesia*, 52(1):41-50.

241. Suarez E, Calvo R, Zamacona MK, Lukas J. (2000) Binding of propofol to blood components. *Br J Clin Pharmacol*, 49(4):380-1.
242. Swinhoe CF, Peacock JE, Glen JB, Reilly CS. (1998) Evaluation of the predictive performance of a 'Diprifusor' TCI system. *Anaesthesia*, 53 Suppl 1:61-7.
243. Takata K, Kurita T, Morishima Y, Morita K, Uraoka M, Sato S. (2008) Do the kidneys contribute to propofol elimination? *Br J Anaesth*, 101(5):648-52.
244. Takizawa D, Hiraoka H, Goto F, Yamamoto K, Horiuchi R. (2005a) Human kidneys play an important role in the elimination of propofol. *Anesthesiology*, 102(2):327-30.
245. Takizawa D, Hiraoka H, Nakamura K, Yamamoto K, Horiuchi R. (2004a) Propofol concentrations during the anhepatic phase of living-related donor liver transplantation. *Clin Pharmacol Ther*, 76(6):648-9.
246. Takizawa D, Sato E, Hiraoka H, Tomioka A, Yamamoto K, Horiuchi R, Goto F. (2005b) Changes in apparent systemic clearance of propofol during transplantation of living related donor liver. *Br J Anaesth*, 95(5):643-647.
247. Takizawa E, Hiraoka H, Takizawa D, Goto F. (2006) Changes in the effect of propofol in response to altered plasma protein binding during normothermic cardiopulmonary bypass. *Br J Anaesth*, 96(2):179-85.
248. Taylor I, White M, Kenny GN. (1993) Assessment of the value and pattern of use of a target controlled propofol infusion system. *Int J Clin Monit Comput*, 10(3):175-80.
249. Thompson KA, Goodale DB. (2000) The recent development of propofol (DIPRIVAN). *Intensive Care Med*, 26(suppl 4):S400-4.
250. Trench AJ, Buckley FP, Drummond GB, Arthur GR, Scott DB. (1978) Propranolol in thyrotoxicosis. Cardiovascular changes during thyroidectomy in patients pre-treated with propranolol. *Anaesthesia*, 33(6):535-9.
251. Umar MA, Yamashita K, Kushiro T, Muir WW 3rd. (2007) Evaluation of cardiovascular effects of total intravenous anesthesia with propofol or a combination of ketamine-medetomidine-propofol in horses. *Am J Vet Res*, 68(2):121-7.
252. Umar MA, Yamashita K, Kushiro T, Muir WW. (2006) Evaluation of total intravenous anesthesia with propofol or ketamine-medetomidine-propofol combination in horses. *J Am Vet Med Assoc*, 228(8):1221-7.

253. Upton RN, Ludbrook GL, Grant C, Martinez AM. (1999) Cardiac output is a determinant of the initial concentrations of propofol after short-infusion administration. *Anesth Analg*, 89(3):545-52.
254. Upton RN, Ludbrook GL. (1997) A physiological model of induction of anaesthesia with propofol in sheep. 1. Structure and estimation of variables. *Br J Anaesth*, 79(4):497-504.
255. Upton RN, Ludbrook GL. (2005) A Physiologically Based, Recirculatory Model of the Kinetics and Dynamics of Propofol in Man. *Anesthesiology*, 103:344-352.
256. Varvel JR, Donoho DL, Shafer SL. (1992) Measuring the Predictive Performance of Computer-Controlled Infusion Pumps. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 20:63-94.
257. Varveris DA, Morton NS. (2002) Target controlled infusion of propofol for induction and maintenance of anaesthesia using the paedfusor: an open pilot study. *Paediatr Anaesth*, 12(7):589-93.
258. Veroli P, O'Kelly B, Bertrand F, Trouvin JH, Farinotti R, Ecoffey C. (1992) Extrahepatic metabolism of propofol in man during the anhepatic phase of orthotopic liver transplantation, *British Journal of Anaesthesia*, 68: 183-186.
259. Vuyk J, Engbers FH, Burm AG, Vletter AA, Bovill JG. (1995) Performance of computer-controlled infusion of propofol: an evaluation of five pharmacokinetic parameter sets. *Anesth Analg*, 81(6):1275-82.
260. Wagner JG. (1974) A safe method for rapidly achieving plasma concentration plateaus. *Clin Pharmacol Ther*, 16(4):691-700.
261. Watkins SB, Hall LW, Clarke KW. (1987) Propofol as an intravenous anaesthetic agent in dogs. *Vet Rec*, 120(14):326-9.
262. Watney GC, Pablo LS. (1992) Median effective dosage of propofol for induction of anesthesia in dogs. *Am J Vet Res*, 53(12):2320-2.
263. Weaver BM, Raptopoulos D. (1990) Induction of anaesthesia in dogs and cats with propofol. *Vet Rec*, 126(25):617-20.
264. White M, Kenny GN, Schraag S. (2008) Use of target controlled infusion to derive age and gender covariates for propofol clearance. *Clin Pharmacokinet*, 47(2):119-27.
265. White M, Kenny GN, Schraag S. (2008) Use of target controlled infusion to derive age and gender covariates for propofol clearance. *Clin Pharmacokinet*, 47(2):119-27.

266. White M, Kenny GNC. (1990) Intravenous propofol anaesthesia using a computerised infusion system. *Anaesthesia*, 45:204-209.
267. White PF. Propofol. In: White P.F. ed. *Textbook of intravenous anesthesia*. 1st ed. 1997; 111-141
268. Wilcke J. (1984) Idiosyncrasies of drug metabolism in cats: effects on pharmacotherapeutics in feline practice. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 14, 1345-1353.
269. Wilkinson GR, Shand DG. (1975) Commentary: a physiological approach to hepatic drug clearance. *Clin Pharmacol Ther*, 18(4):377-90.
270. Yamaoka K, Nakagawa T, Uno T. (1978) Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations. *J Pharmacokinet Biopharm*, Apr;6(2):165-75.
271. Yang CY, Luk HN, Chen SY, Wu WC, Chai CY. (1997) Propofol inhibits medullary pressor mechanisms in cats. *Can J Anaesth*, 44(7):775-81.
272. Yeh S, Chernov H, Woods L. (1971) Metabolism of morphine by cats. *J Pharm Sci*, 60:469-471.
273. Zacny JP, Coalson DW, Young CJ, Klafta JM, Lichtor JL, Rupani G, Thapar P, Apfelbaum JL. (1996) Propofol at conscious sedation doses produces mild analgesia to cold pressor-induced pain in healthy volunteers. *J Clin Anesth*, 8(6):469-74.
274. Zhang SH, Yao SL, Zeng BX. (2001) Subcellular expression of UGT1A6 and CYP1A1 responsible for propofol metabolism in human brain. *Acta Anaesthesiologica Sinica*, 22:1013-1017.
275. Zonca A, Ravasio G, Franci P, Pilla T, Gallo M, Villa R, Carli S, Montesissa C, Cagnardi P. (2010) Aspetti farmacocinetici del propofolo dopo somministrazione endovenosa nel gatto. *Atti della Società Italiana delle Scienze Veterinarie (S.I.S.Vet.)*, Asti 8-10 Settembre 2010, vol. LXIV, 166-168.
276. Zoran DL, Riedesel DH, Dyer DC. (1993) Pharmacokinetics of propofol in mixed-breed dogs and greyhounds. *Am J Vet Res*, 54(5):755-60.