

**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**

Sede Amministrativa: Università degli Studi di Padova

Dipartimento di Medicina Animale Produzioni e Salute

Corso di Dottorato di Ricerca in Scienze Veterinarie

XXXI ciclo

**SVILUPPO DI UN MODELLO FARMACOCINETICO
PER L'INFUSIONE ENDOVENOSA ASSISTITA DA
COMPUTER (TCI) DI PROPOFOL NEL CANE,
OTTIMIZZATO MEDIANTE LO STUDIO DI
COVARIABILI DISTRIBUTIVE**

Coordinatore: Chiar.ma Prof.ssa Valentina Zappulli

Supervisore: Dott. Paolo Franci

Dottorando: Andrea Cattai

Alla mia famiglia



The Veterinarian by Jose Perez

INDICE

INDICE.....	5
INDICE DELLE FIGURE	7
INDICE DELLE TABELLE	9
RIASSUNTO	10
SUMMARY	12
ELENCO DELLE ABBREVIAZIONI	14

PARTE PRIMA

CAPITOLO I

PROPOFOL

1.1 INTRODUZIONE.....	18
1.2 FARMACOCINETICA.....	21
1.3 FARMACODINAMICA.....	29

CAPITOLO II

TIVA: ANESTESIA TOTALMENTE ENDOVENOSA

2.1 INTRODUZIONE.....	36
2.2 BACKGROUND SCIENTIFICO	38
2.3 APPLICAZIONE CLINICA	48

CAPITOLO III

TCI: TARGET CONTROLLED INFUSION

3.1 TCI, IL CONCETTO E LA STORIA	57
3.2 TCI, FUNZIONAMENTO E CONFRONTO CON L'INFUSIONE MANUALE	63
3.3 TCI, CONSIDERAZIONI FARMACOLOGICHE.....	69

PARTE SECONDA (PARTE SPERIMENTALE)

CAPITOLO IV

SVILUPPO DI UN MODELLO PK DEL PROPOFOL NEL CANE OTTIMIZZATO DA COVARIABILI

4.1 INTRODUZIONE	77
4.2 MATERIALI E METODI	
4.2.1 <i>Animali e protocollo sperimentale</i>	80
4.2.2 <i>Analisi farmacocinetica e creazione del modello</i>	82
4.3 RISULTATI	
4.3.1 <i>Animali e protocollo sperimentale</i>	86
4.3.2 <i>Modello PK e covariabili significative</i>	87
4.4 DISCUSSIONE	92

CAPITOLO V

VALIDAZIONE DEL NUOVO MODELLO PER LA TCI DI PROPOFOL NEL CANE

5.1 INTRODUZIONE	96
5.2 MATERIALI E METODI	
5.2.1 <i>Animali e protocollo sperimentale</i>	97
5.2.2 <i>Analisi statistica ed elaborazione dei dati</i>	99
5.3 RISULTATI	
5.3.1 <i>Animali e protocollo sperimentale</i>	100
5.3.2 <i>Valutazione delle performance del modello PK</i>	102
5.4 DISCUSSIONE	108
5.5 CONCLUSIONI	113

BIBLIOGRAFIA	115
--------------------	-----

INDICE DELLE FIGURE

Figura 1.1 Propofol in emulsione acqueo-lipidica contenente olio di soia (contiene trigliceridi a lunga catena), glicerolo, lecitina di uovo e sodio idrossido (Glowaski and Wetmore, 1999).

Figura 1.2 Tipica curva concentrazione-tempo descrivibile mediante un'equazione tri-esponenziale. In particolare si tratta della curva semi-logaritmica del calo nel tempo della concentrazione plasmatica media di propofol nel gatto, dopo singolo bolo EV (Cattai et al., 2016).

Figura 1.3 Struttura del propofol e dei suoi principali metaboliti derivanti dal metabolismo epatico.

Figura 1.4 Due esempi di specialità medicinali per uso veterinario in flacone multidose.

Figura 2.1 Declino tri-esponenziale della concentrazione plasmatica nel tempo del propofol nel gatto dopo singolo bolo EV (Cattai et al., 2016). A, B e C sono le intercette estrapolate al tempo zero della fase di distribuzione rapida, di quella lenta e della fase terminale rispettivamente.

Figura 2.2 Modello farmacocinetico tri-compartimentale con incorporato il compartimento effettore (PKPD model). Volume del compartimento centrale (V_1), periferico rapido (V_2) e periferico lento (V_3). Costanti intercompartimentali di trasferimento del farmaco (K_{12} , K_{21} , K_{13} , K_{31}), di eliminazione (K_{10}) e di equilibrio tra plasma e sito effettore (K_{e0}).

Figura 2.3 Curva concentrazione-risposta di un farmaco.

Figura 2.4 Andamento nel tempo della concentrazione plasmatica di un farmaco somministrato in boli ripetuti (in alto) e infusione (in basso): l'infusione consente di limitare le fluttuazioni della concentrazione al di fuori della finestra terapeutica, che possono esitare in effetti indesiderati o inefficacia.

Figura 2.5 Esempio di schema d'infusione manuale, ideato per mantenere, in un uomo sano di 40 anni e 70 Kg, una concentrazione di propofol pari a $3\mu\text{g/ml}$ circa: bolo di carico di 1mg/Kg , seguito da 10mg/Kg/h per 10min, 8mg/Kg/h per 10min, poi 6mg/Kg/h fino ai 60min, quando l'infusione viene interrotta. La C_p (linea più scura) massima è di $4,5\mu\text{g/ml}$. La concentrazione nel sito effettore raggiunge i $3\mu\text{g/ml}$ dopo circa 10min (Mani and Morton, 2010).

Figura 3.1 Disponibilità di *device* per la TCI nell'uomo nel mondo. In verde, bianco e rosso sono rappresentati i paesi per i quali rispettivamente esiste/è incerta/non esiste la disponibilità ed una approvazione regolamentare (Absalom et al., 2016).

Figura 3.2 Immagine di copertina di *Veterinary Record* (Maggio 2016), tratta dallo studio di Cattai et al. sull'infusione assistita da computer nel gatto.

Figura 3.3 Rappresentazione schematica di un sistema TCI open-loop. La pompa comunica continuamente al software la quantità di farmaco somministrata al paziente cosicché la simulazione PK sulla concentrazione corrente può essere aggiornata. Il software traduce le predizioni ricavate dal modello PK in istruzioni per il controllo automatico dell'infusione (per i dettagli vedi il testo).

Figura 3.4 Grafico della velocità d'infusione e della concentrazione plasmatica calcolata (o predetta) di un farmaco somministrato mediante TCI. La C_p target iniziale scelta è $3\mu\text{g/ml}$, successivamente portata a $5\mu\text{g/ml}$, poi a $2\mu\text{g/ml}$, per poi terminare l'infusione dopo circa 45 minuti

Figura 4.1 Schermata del software CCIP per la TCI e pompa infusoriale Graseby 3500.

Figura 4.2 Procedura di campionamento.

Figura 5.1 Cane sottoposto a RMN in anestesia con TCI di propofol.

Figura 5.2 Grafici delle concentrazioni predette e misurate nel tempo relative ai casi con la performance predittiva migliore, mediana e peggiore tra i 14 totali dello studio.

Figura 5.3 Grafico degli errori predittivi correlati a specifici momenti temporali. La linea orizzontale all'interno di ciascun box rappresenta la mediana, i limiti superiore ed inferiore il 75° e 25° percentile, i whiskers verticali che si estendono oltre i box il range. Periodi: 1= a 3 min di infusione (induzione); 2= a 7 min di infusione (induzione); 3= dai 7 min allo stop (mantenimento); 4= a 3 min dallo stop dell'infusione (fase di risveglio); 5= a 7 min dallo stop (fase di risveglio); 6= all'estubazione; 7= a 30 min dallo stop (paziente sveglio); 8= a 60 min dallo stop (paziente sveglio).

Figura 5.4 Errori predittivi (PE) per ciascun campionamento Vs le concentrazioni di propofol misurate nei campioni. La linea continua indica PE = zero.

Figura 5.5 Concentrazioni di propofol predette dal modello PK per la TCI Vs le concentrazioni misurate mediante HPLC nel sangue. *Identity line* (linea continua) ed ellissi di confidenza (95% Cis).

Figura 5.6 Errore predittivo mediano (MDPE) ed errore predittivo mediano assoluto (MDAPE) per ciascuna TCI eseguita. Mediana (linea continua) e media (croce) del gruppo. In verde il range ottimale ai fini della validazione clinica.

Figura 5.7 Divergenza e *wobble* per ciascuna TCI eseguita. Mediana (linea continua) e media (croce) del gruppo.

INDICE DELLE TABELLE

Tabella 1.1 Valori medi dei parametri farmacocinetici pubblicati in letteratura per il propofol nel cane. 3-C Modello tricompartmentale; 2-C Modello bicompartimentale; $t_{1/2\alpha}$, $t_{1/2\beta}$, $t_{1/2\gamma}$ Emivite di distribuzione ed eliminazione; Cl_{TB} *Total body clearance*; V_1 Volume di distribuzione nel compartimento centrale; V_{ss} Volume di distribuzione allo *steady state*; K_{10} , K_{12} , K_{21} , K_{13} , K_{31} Costanti di trasferimento tra il compartimento centrale e i compartimenti periferici.

Tabella 1.2 Set di parametri farmacocinetici del modello Beths et al. (2001).

Tabella 3.1 Riassuntivo dei dettagli relativi ai sistemi TCI aperti 'di seconda generazione' commercializzati a partire dal 2004. Per ciascuna pompa infusoriale sono riportati i farmaci infondibili, i modelli PK, la popolazione per la quale sono stati ricavati, e le modalità di controllo del target disponibili (Absalom et al., 2016).

Tabella 3.2 Performance predittive di modelli PK per la TCI di propofol nell'uomo. Valori mediani e range dei quattro indici di performance (Cortínez et al., 2014; Eleveld et al., 2014; Marsh et al., 1991; Schnider et al., 1998).

Tabella 4.1 Segnalamento dei soggetti reclutati per la prima parte dello studio.

Tabella 4.2 Risultati della modellazione per gradi delle covariabili.

Tabella 4.3 Parametri farmacocinetici del modello finale.

Tabella 4.4 Parametri farmacocinetici del propofol dopo infusione EV nel cane.

Tabella 5.1 Dati demografici e misurati per alcuni parametri selezionati dei 14 cani dello studio.

Tabella 5.2 Indici di performance mediani delle TCI di propofol eseguite in 14 cani con il modello farmacocinetico sviluppato.

RIASSUNTO

Se tre quarti di secolo fa c'era chi criticava l'anestesia endovenosa descrivendola come "un metodo ideale di eutanasia" (Halford, 1943), oggi l'utilizzo di anestetici iniettabili per indurre e mantenere l'anestesia è divenuto di uso comune in medicina umana e presenta sempre maggior diffusione in veterinaria. Lo scopo essenziale dell'anestesia endovenosa è quello di ottenere concentrazioni di anestetico nel sangue che si traducano nell'effetto desiderato (Morgan, 1983). Rispetto alla somministrazione a boli intermittenti, minimizzando le fluttuazioni della concentrazione plasmatica del farmaco, l'infusione endovenosa riduce il rischio di sovra e sotto-dosaggi, potenziali responsabili rispettivamente di effetti collaterali e inefficacia terapeutica.

Ad oggi l'infusione assistita da computer (conosciuta soprattutto con l'acronimo TCI) può considerarsi la tecnica più moderna ed efficace per la somministrazione endovenosa di farmaci in ambito anestesiológico (Shafer and Egan, 2016). Tra questi, in virtù di una serie di caratteristiche favorevoli tra cui un profilo farmacocinetico adatto all'uso in infusione, il propofol rappresenta attualmente l'agente anestetico iniettabile di prima scelta e il più utilizzato sia in medicina umana che in veterinaria.

Molti fattori possono influenzare la distribuzione di un farmaco, la loro conoscenza e comprensione specifica può essere di grande aiuto per modulare la somministrazione sulle reali necessità dei diversi pazienti. Una caratteristica unica dei sistemi TCI è la loro capacità potenziale di considerare diverse covariabili distributive che entrano in gioco durante l'infusione del farmaco nell'organismo. I sistemi TCI utilizzano dei modelli farmacocinetici per calcolare, in tempo reale, la velocità d'infusione necessaria per raggiungere e mantenere la concentrazione desiderata (target) del farmaco nel sangue del paziente. Un importante aspetto è quello della variabilità farmacocinetica interindividuale, in particolar modo nel caso del cane se si considera la notevole variabilità intraspecifica. L'utilizzo di un set di parametri farmacocinetici validi e pertinenti è di grande importanza, infatti, poiché tali parametri spesso derivano da studi condotti su popolazioni ridotte e relativamente omogenee, in alcuni pazienti le concentrazioni reali possono discostarsi considerevolmente da quelle predette dal modello. Lo studio e l'inclusione di covariabili distributive nei modelli farmacocinetici, consente ai sistemi TCI di predire le concentrazioni con minor rischio d'errore, permettendone l'utilizzo in sicurezza in una finestra più ampia di pazienti con differenti caratteristiche demografiche, fisiologiche o di condizione clinica (van den

Nieuwenhuyzen et al., 2000; Egan, 2003; Schnider et al., 2016).

Nell'ambito della medicina umana l'infusione a target controllato è una tecnologia considerata oramai matura e sicura, con diversi sistemi TCI esistenti approvati per l'infusione di propofol nell'ambito della routinaria pratica anestesiologicala (Absalom et al., 2016; Schnider et al., 2016). Lo sviluppo di questa tecnica in ambito veterinario invece è solamente agli inizi. Allo stato attuale sono stato descritti in letteratura solamente tre modelli farmacocinetici a singola variabile validati per l'utilizzo in ambito clinico, due per la TCI di propofol nei cani (Beths et al., 2001; Lee et al., 2012), uno per la TCI di propofol nei gatti (Cattai et al., 2016).

Scopi del progetto di ricerca:

- Ottenere una farmacocinetica di popolazione del propofol somministrato mediante infusione nel cane, studiando al contempo l'effetto di alcune covariabili sulla distribuzione del farmaco in questa specie.
- Elaborare un modello farmacocinetico finale per l'infusione assistita da computer del propofol nel cane, ottimizzato mediante l'inclusione delle covariabili distributive aventi un impatto significativo sullo stesso.
- Valutare le performance del nuovo modello TCI per il suo utilizzo nell'ambito della comune pratica anestesiologicala.

La presente tesi si compone di una prima parte, strutturata in tre capitoli, di introduzione generale e rassegna della letteratura sul propofol, l'anestesia totalmente endovenosa (TIVA) e l'infusione controllata a target (TCI); ed una seconda parte relativa alla ricerca sperimentale. Quest'ultima è suddivisa in due capitoli, uno per la prima fase della ricerca dedicata allo sviluppo del modello farmacocinetico ottimizzato attraverso lo studio delle covariabili, uno per la seconda fase dedicata alla validazione del modello.

A oggi l'uso del propofol per indurre e mantenere anestesi e sedazioni è di uso comune in medicina umana e si sta progressivamente diffondendo in veterinaria. Con il presente lavoro si sono acquisite nuove conoscenze che permettono di meglio comprendere la cinetica del propofol somministrato in infusione continua nel cane e come questa venga influenzata da alcune variabili. È stato sviluppato e testato il primo modello farmacocinetico per l'infusione assistita da computer di propofol nel cane ottimizzato da covariabili e utilizzabile in ambito clinico su un'ampia finestra di pazienti. Sono stati inoltre individuati dei valori target di riferimento per l'induzione e il mantenimento dell'anestesia con propofol, per il risveglio e l'estubazione.

SUMMARY

PHARMACOKINETIC MODEL FOR INTRAVENOUS PROPOFOL ADMINISTRATION ASSISTED BY COMPUTER (TCI) IN DOGS IMPROVED BY THE STUDY OF THE COVARIATE EFFECTS

If three-quarters of a century ago there were those who criticized intravenous anaesthesia describing it as "an ideal method of euthanasia" (Halford, 1943), today, the use of injectable anesthetics to induce and maintain anaesthesia has become commonly used in human medicine and is becoming increasingly widespread in the veterinary medicine. The basic purpose of intravenous anaesthesia is to achieve anesthetic blood concentrations which will result in the desired effect (Morgan, 1983). Compared to intermittent bolus administration, minimizing fluctuations in the plasma concentration of the drug, intravenous infusion reduces the risk of over and under-dosing, which are potentially responsible for side effects and therapeutic ineffectiveness, respectively.

To date, computer-assisted infusion (best known under the acronym TCI) can be considered the most advanced and effective technique for intravenous administration of drugs in anaesthesia (Shafer and Egan, 2016). Among these drugs, propofol, thanks to a series of favorable characteristics including a pharmacokinetic profile suitable for infusion, is currently the injectable anaesthetic agent of first choice and the most widely-used in both human and veterinary medicine.

Many factors can affect drugs distribution, their knowledge and specific understanding can be of great help to titrate their administration based on the real needs of individual patients. A unique feature of TCI systems is their potential ability to consider different distributive covariates that come into play during drugs infusion. TCI systems use pharmacokinetic models to calculate, in real time, the rate of infusion required to achieve and maintain the desired drug blood concentration (target) in the patient. Interindividual pharmacokinetic variability is an important point, especially in dogs if we consider the considerable intraspecific variability. The use of an appropriate set of pharmacokinetic parameters is of great importance, in fact, since such parameters often derive from studies carried out in small and homogeneous populations, for some patients real concentrations can significantly deviate from those predicted by the model. The study and inclusion of covariates in pharmacokinetic models, allows TCI systems to predict concentrations with a lower risk of error, allowing their safe use in a wider range of patients with different

demographic and physiological characteristics or clinical status (van den Nieuwenhuyzen et al., 2000; Egan, 2003; Schnider et al., 2016).

In the field of human medicine, target controlled infusion is already considered a mature and safe technology, with several existing TCI systems approved for propofol infusion as part of routine anaesthesia practice (Absalom et al., 2016; Schnider et al., 2016). In veterinary medicine, the development of this technique is only at the beginning instead. At present, only three single-variable pharmacokinetic models validated for clinical use have been described in literature, two for propofol TCI in dogs (Beths et al., 2001; Lee et al., 2012), one for TCI of propofol in cats (Cattai et al., 2016).

Purposes of the research project:

- To obtain a population pharmacokinetics of propofol administered by infusion in dogs, meanwhile, studying the effect of some covariates on the distribution of the drug in this species.
- To elaborate a final pharmacokinetic model for the computer-assisted infusion of propofol in dogs, optimized by the inclusion of significant covariates.
- To evaluate the performance of the new TCI model for its use in the context of common anesthetic practice.

The present thesis consists of a first part, structured in three chapters, of general introduction and review of existing literature related to propofol, totally intravenous anaesthesia (TIVA) and target controlled infusion (TCI); and a second part related to the experimental research. The latter is divided into two chapters, one for the first phase of research dedicated to the development of the optimized pharmacokinetic model through the study of covariates, one for the second phase dedicated to the validation of the model. To date, the use of propofol to induce and maintain anaesthesia or sedation is commonly used in human medicine and is progressively spreading in veterinary medicine. From this research we have acquired new knowledge that will allow us to better understand the kinetics of propofol administered as a continuous infusion in dogs, and how this is affected by some variables. The first pharmacokinetic model for computer-assisted infusion of propofol, optimized by covariates and usable in a clinical setting over a wide range of dogs, has been developed and tested. In addition, target reference values for the induction and maintenance of anaesthesia with propofol, and for the awakening and extubation, have been identified.

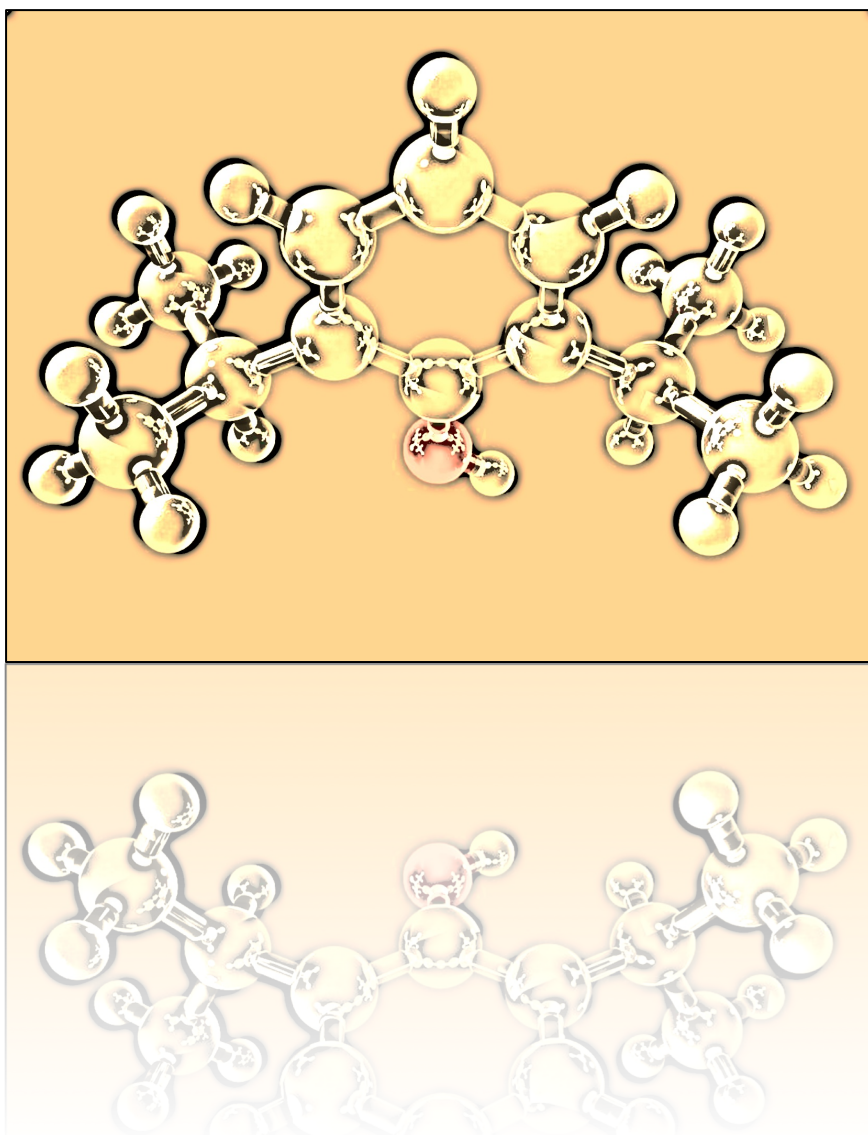
ELENCO DELLE ABBREVIAZIONI

AWR	<i>Absolute weighted residual</i>
BCS	<i>Body condition score</i>
CCIP	<i>Computer Control Infusion Pump</i>
Cl	<i>Plasma clearance (total-body)</i>
Cp	Concentrazione plasmatica
CRI	<i>Constant rate infusion</i>
CSHT	<i>Context-sensitive Half-time</i>
CV	Coefficiente di variazione
DS	Deviazione standard
EV	Endovena/endovenoso
h	Ora
IUPAC	<i>International Union for Pure and Applied Chemistry</i>
K_{12}, K_{21}	Costanti di trasferimento tra compartimento centrale e rapido
K_{13}, K_{31}	Costanti di trasferimento tra compartimento centrale e lento
K_{10}	Costante di eliminazione dal compartimento centrale
K_{e0}	Costante di equilibrio tra comp. centrale e sito effettore
Kg	Chilogrammi
L	Litri
MDAPE	<i>Median absolute performance error</i>
MDPE	<i>Median prediction error</i>
mg	Milligrammi
min	Minuti
mL	Millilitri
μg	Microgrammi
μl	Microlitri
ng	Nanogrammi
OFV	<i>Objective function value</i>
PD	Farmacodinamica/o/i
PK	Farmacocinetica/o/i
PONV	<i>Postoperative nausea and vomiting</i>
PPF	Propofol

SNC	Sistema nervoso centrale
TCI	<i>Target Controlled Infusion</i>
TIVA	<i>Total Intravenous Anaesthesia</i>
$t_{1/2}$	Emivita
$t_{1/2\alpha}$	Emivita di distribuzione rapida
$t_{1/2\beta}$	Emivita di distribuzione lenta
$t_{1/2\gamma}$	Emivita di eliminazione
V_1	Compartimento centrale
V_2	Compartimento periferico rapido
V_3	Compartimento periferico lento
Vd	Volume di distribuzione
V_{ss}	Volume di distribuzione allo stato stazionario
WR	Weighted residual

PARTE PRIMA

PROPOFOL



1.1 INTRODUZIONE

Negli anni '70 viene scoperto un composto lipofilico alchilfenolico con interessanti proprietà anestetiche negli animali. Lo si chiama "propofol", contrazione del nome IUPAC della molecola: 2,6-di-isopropylfenolo. A temperatura ambiente si presenta sotto forma di olio e per essere somministrato endovena viene inizialmente formulato in "Cremophor EL". I primi esperimenti su questa formulazione vengono condotti su diverse specie con risultati promettenti, tuttavia, altri studi evidenzieranno l'esistenza di un rischio consistente di rilascio d'istamina connesso al veicolo, rivelando la necessità di un cambiamento radicale nella formulazione. Viene quindi sviluppata la formulazione standard attuale, un'emulsione lipidica che risolve il problema delle reazioni anafilattiche nei pazienti senza modificare le proprietà anestetiche del principio attivo (Glen and Hunter, 1984).

Il veicolo, "Intralipid", è costituito principalmente da derivati della soia e dell'uovo (glicerolo, lecitina di uovo, olio di semi di soia) e viene comunemente impiegato nella nutrizione parenterale. Sebbene molto rare, è bene ricordare che sono descritte nell'uomo reazioni di ipersensibilità in alcuni soggetti allergici all'uovo, alla soia o a loro derivati. Nel 1986 il propofol viene immesso per la prima volta sul mercato da AstraZeneca (con denominazione commerciale Diprivan®) come emulsione all'1% iniettabile endovena in boli o infusione. Da allora, in breve tempo, è diventato l'agente ipnotico iniettabile più utilizzato in anestesia. Inizialmente introdotto come farmaco per l'induzione, il suo utilizzo si è poi allargato alle infusioni per il mantenimento dell'anestesia o per le sedazioni, ad esempio in associazione a tecniche di anestesia locoregionale o nell'ambito della terapia intensiva (Sneyd, 2004; Absalom et al., 2016; Green and Krauss, 2016; Lin, 2017).

Ad oggi nel mondo sono presenti in commercio varie formulazioni e altre sono in fase di sperimentazione. Le più utilizzate in Europa sono quelle "tradizionali" costituite da propofol all'1% o al 2% in olio di soia al 10% (stabilizzatore), glicerolo al 2,25% (per mantenere l'isotonicità con il sangue), lecitina di uovo all' 1,2% (emulsionante), sodio idrossido (per correggere il pH) e acqua, e prive di agenti conservanti (**Figura 1.1**). Poiché, in seguito a contaminazione iatrogena, gli eccipienti possono favorire la moltiplicazione batterica e la produzione di endotossine con possibili conseguenze severe per il paziente (Crowther et al., 1996; Franci et al., 2015), risulta di fondamentale importanza rispettare le indicazioni del produttore per un utilizzo e una conservazione corretti del farmaco. In commercio, esistono anche formulazioni che contengono conservanti ad azione antibatterica e

antifungina, quali ad esempio acido tetraacetico diammino etilenico (EDTA), sodio metabisolfito o alcol benzilico (E1519). Queste formulazioni consentono generalmente dei tempi di utilizzo dopo l'apertura più prolungati ma hanno anche degli svantaggi. Come gli altri eccipienti, anche i conservanti aggiunti hanno una loro attività biologica e possono influenzare l'attività farmacologica del propofol. Ad esempio, gli acidi grassi ω -3 e ω -6 possiedono rispettivamente attività anti- e pro-infiammatoria, l'EDTA in quanto chelante di ioni può alterare le funzioni di alcuni tipi di cellule, il metabisolfito può generare radicali liberi ed i solfiti causare broncospasmo e anafilassi (Marik, 2004). L'alcol benzilico limita le possibilità di utilizzo del propofol alla sola induzione dell'anestesia. L'infusione o dosi ripetute, infatti, potrebbero risultare tossiche a causa del conservante: l'E1519 può comportare un prolungamento del tempo di risveglio e ipercinesia nei gatti, segni neurologici nei cani e può avere esito fatale in entrambe le specie. Negli esseri umani l'alcol benzilico somministrato per via parenterale durante la gravidanza è stato associato a sindrome tossica fatale nei neonati pretermine (foglio illustrativo Propovet Multidose®). Tutte le formulazioni in commercio sono stabili a temperatura ambiente (non superiore ai 25°C e non inferiore a 4°C) e non sono sensibili alla luce. Per l'infusione continua il propofol può essere diluito in una soluzione di glucosio isotonica (5%), la concentrazione finale del principio attivo non dovrebbe essere inferiore allo 0,2% e dovrebbe essere utilizzato entro 8 ore dalla diluizione (Glowaski and Wetmore, 1999). Non sono riportate in letteratura incompatibilità con altri farmaci comunemente utilizzati in associazione al propofol nella pratica anestesiológica, quali: agenti preanestetici sedativi come fenotiazine, benzodiazepine o alfa2-agonisti, analgesici come gli oppioidi, anticolinergici, miorilassanti, altri farmaci anestetici come alogenati, ketamina o anestetici locali.

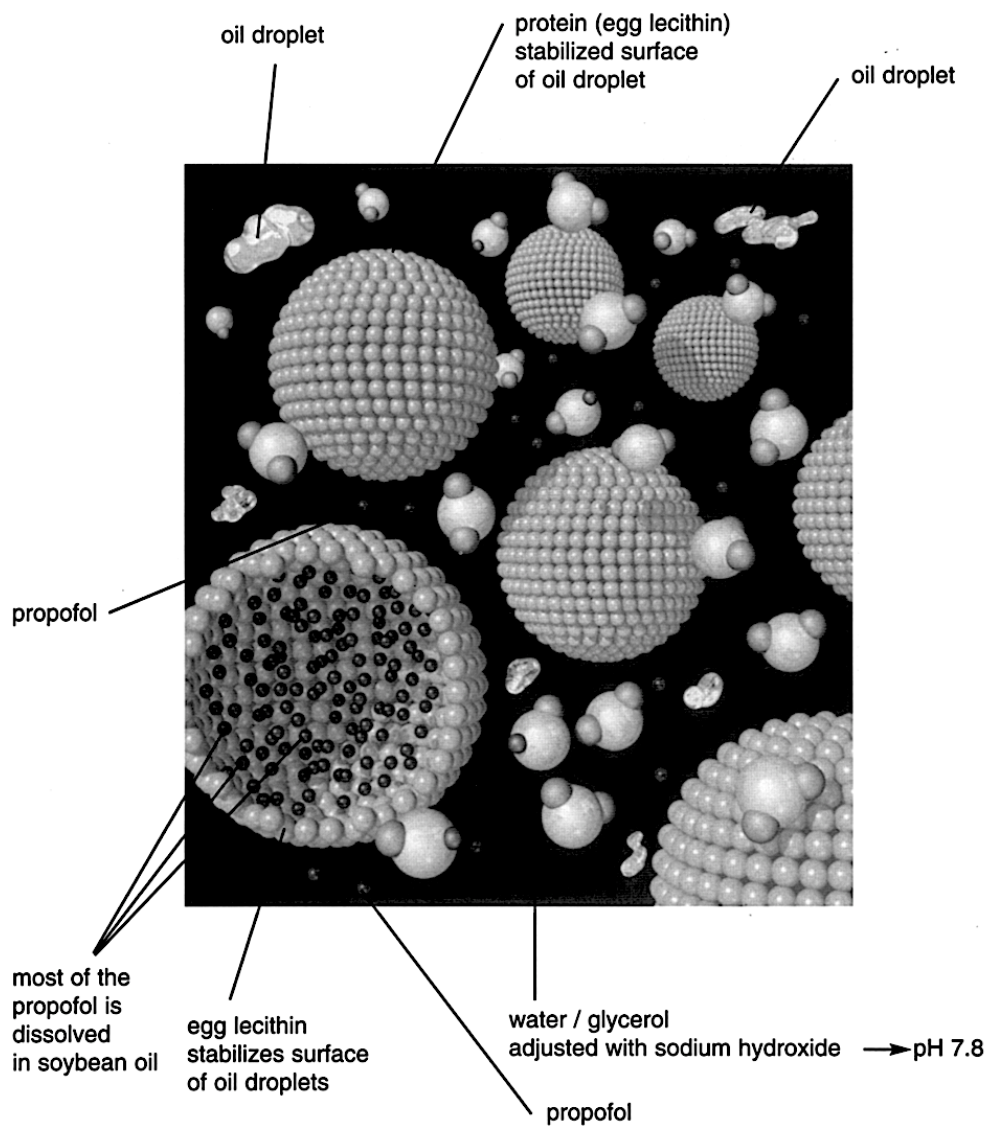


Figura 1.1 Propofol in emulsione acqueo-lipidica contenente olio di soia (contiene trigliceridi a lunga catena), glicerolo, lecitina di uovo e sodio idrossido (Glowaski and Wetmore, 1999).

1.2 FARMACOCINETICA

La farmacocinetica del propofol è stata ampiamente studiata nell'uomo e negli animali e la maggior parte degli studi più recenti è concorde sul fatto che, entro un ampio range di dosaggio, il modello più adatto a descriverne la distribuzione ed eliminazione dopo somministrazione endovenosa sia quello tri-compartimentale lineare (Cockshott et al., 1992; Kataria et al., 1994; Schüttler and Ihmsen, 2000; Xu et al., 2005; Lee et al., 2009; Cattai et al., 2016)

In un modello a tre compartimenti l'andamento in funzione del tempo delle concentrazioni del farmaco nel sangue è descritto da un'equazione tri-esponenziale. Il modello si assume essere lineare, il che significa che la curva di declino della concentrazione ematica nel tempo non è influenzata dalla dose di farmaco somministrata (curve relative a differenti dosaggi sono pressoché parallele/sovrapponibili) (Simons et al., 1991; Engbers, 2003). (Figura 1.2).

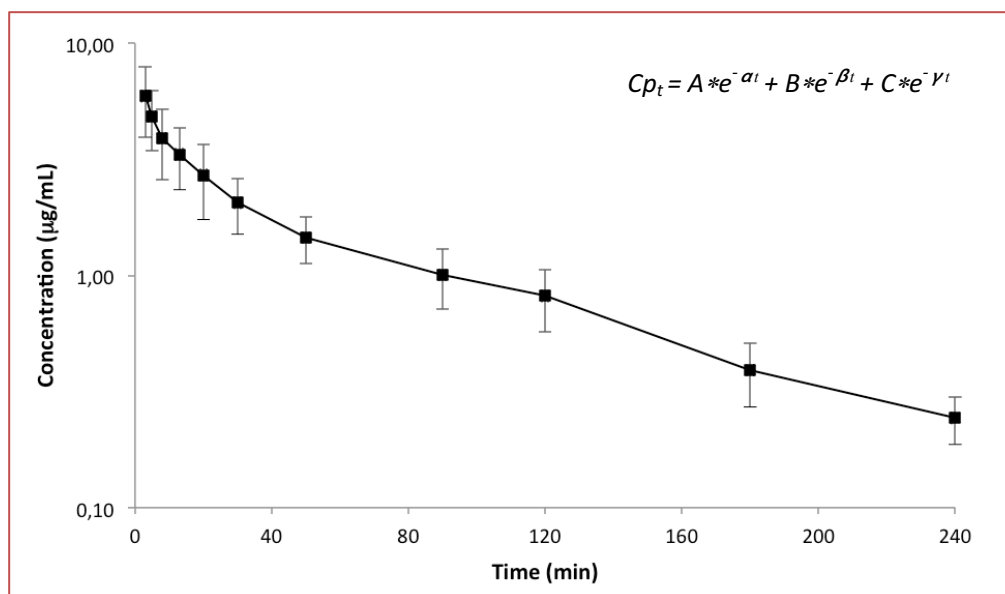


Figura 1.2 Tipica curva concentrazione-tempo descrivibile mediante un'equazione tri-esponenziale. In particolare si tratta della curva semi-logaritmica del calo nel tempo della concentrazione plasmatica media di propofol nel gatto, dopo singolo bolo EV (Cattai et al., 2016).

In seguito alla somministrazione di una dose iniziale di propofol l'onset è rapido, viene rapidamente raggiunto infatti l'equilibrio tra il sangue e il cervello (sito effetto o biofase). Il passaggio nella biofase è favorito dalla lipofilia del principio attivo. Studi nell'uomo

indicano un *time to peak effect* (t_{peak} , ovvero il tempo necessario al sito effettore per raggiungere l'equilibrio con il plasma) per il propofol di circa 1.5-2 min. Oltre che della variabilità interindividuale, questo dato risente della velocità di somministrazione del farmaco per cui a somministrazioni più rapide corrisponderà tendenzialmente un onset più breve (Minto et al., 2003; Struys et al., 2007). Nel cane è riportato in letteratura un t_{peak} di 3.1 ± 1.1 min (1.7 – 4.8 min), corrispondente ad una costante di conversione da concentrazione plasmatica a effettoriale di propofol (K_{e0}) pari a 0.723 min^{-1} (Brás et al., 2009). Un secondo studio riporta una K_{e0} leggermente inferiore pari a 0.696 min^{-1} (Lee et al., 2009). E' importante tenere a mente questo aspetto farmacocinetico tutte le volte che si va a somministrare il propofol "ad effetto", per esempio per l'induzione dell'anestesia. Poiché esiste una isteresi nell'effetto clinico quando la concentrazione di propofol nel sangue aumenta, è opportuno lasciare alla dose che somministriamo il tempo necessario alla comparsa dell'effetto massimo, questo per ridurre il rischio di overdose e relativi possibili effetti collaterali quali depressione cardiovascolare e respiratoria. Allo stesso modo è importante scegliere una adeguata velocità di somministrazione del bolo, sulla base dell'effetto ricercato e delle caratteristiche del paziente (e.g. età, stato clinico-fisico, stato del sensorio). Se l'anestetico viene iniettato troppo lentamente è possibile incorrere in induzioni di scarsa qualità con comparsa di segni di eccitamento, al contrario, una somministrazione troppo rapida comporta un minor controllo dell'effetto ed espone ad un rischio maggiore di comparsa di fenomeni collaterali .

Dopo una prima fase di diminuzione rapida della concentrazione plasmatica del propofol somministrato endovena, dovuta principalmente alla rapida distribuzione iniziale dell'anestetico nei tessuti più perfusi, ne segue una seconda caratterizzata da una minore pendenza della curva concentrazione-tempo, associata ad una fase distributiva del propofol più lenta, soprattutto verso i tessuti a perfusione limitata come il grasso (più del 70% della concentrazione cala nelle prime due fasi). Segue ancora una terza fase terminale, nella quale il calo della concentrazione procede molto lentamente, in quanto determinato per lo più esclusivamente dalla *clearance* metabolica del farmaco. In generale, il propofol, può considerarsi un farmaco anestetico con un ampio volume di distribuzione centrale e di redistribuzione (V_1 e V_{ss} elevati in proporzione al volume corporeo), a rapida distribuzione iniziale ($t_{1/2\alpha}$ breve) e rapida eliminazione dal plasma (*clearance* rapida), nell'uomo come in diverse specie animali (Kanto and Gepts, 1989; Cockshott et al., 1992; Nolan and Reid, 1993; Cattai et al., 2016;).

L'emivita di eliminazione ($t_{1/2\gamma}$ o $t_{1/2\beta}$ a seconda del modello) del propofol è relativamente lunga, nell'uomo (da 3 h fino a 12 h o più negli anziani) (Kanto and Gepts, 1989; Schüttler and Ihmsen, 2000), come anche nel cane (fino a 6 h dopo bolo singolo, fino a 15 h dopo infusione) (Cockshott et al., 1992) e nel gatto (fino a 2h dopo bolo singolo, fino a 10 h dopo infusione) (Cleale et al., 2009; Cattai et al., 2016). L'eliminazione dall'organismo nella terza fase esponenziale risulta infatti vincolata al lento ritorno del farmaco nel sangue dai tessuti poco perfusi come quello adiposo (Cockshott et al., 1992), tuttavia nonostante ciò, anche dopo periodi relativamente lunghi d'infusione (se questa viene regolata in modo da rimanere all'interno della finestra terapeutica senza andare in sovra-dosaggio) i soggetti anestetizzati (uomo, come anche cane e gatto) esibiscono tempi di risveglio mediamente brevi (Kanto and Gepts, 1989; Nolan and Reid, 1993; Beier et al., 2015; Cattai et al., 2016). La ragione principale di questa apparente discrepanza è che il propofol, data la sua natura lipofila, si distribuisce estesamente dal compartimento centrale (V_1) a quello periferico dei tessuti meno perfusi (V_3), raggiungendo però l'equilibrio molto lentamente (di conseguenza, la concentrazione di propofol nel plasma, anche dopo un'infusione prolungata, sarà ancora superiore rispetto a quella nei compartimenti periferici). Dopo un bolo o a seguito dell'interruzione di un'infusione di propofol, la concentrazione di farmaco nel plasma diminuisce rapidamente, sia per la rapida *clearance* sia per i fenomeni di ridistribuzione, ed il risveglio del paziente avviene dopo che questa scende al di sotto di una certa soglia. Quando la concentrazione in V_1 si abbassa al di sotto di quella in V_3 , il propofol ritorna nel plasma, tale trasferimento però avviene molto lentamente e le concentrazioni di propofol nel compartimento centrale rimangono generalmente sub-terapeutiche. Per questo motivo la completa eliminazione dell'anestetico dall'organismo richiede diverse ore, ma gli effetti sul 'risveglio clinico' sono minimi (Smith and White, 1998a). Alla luce di quanto detto e in accordo con Hughes e colleghi (1992) per il propofol l'emivita di eliminazione non sembra essere un buon indicatore del tempo di risveglio. L'emivita sensibile al contesto (CSHT) è una misura più pertinente. Nell'uomo, per infusioni che durano fino a 8h, la CSHT è inferiore ai 40 min, fino a 4h inferiore a 25 min, fino a 2h inferiore a 15 min, e poiché la diminuzione della concentrazione necessaria per il risveglio dopo anestesia o sedazione con propofol è generalmente inferiore al 50%, il risveglio dopo anestesia con propofol si può dire che resta rapido anche dopo infusioni prolungate (Hughes et al., 1992).

La *clearance* del propofol è rapida ed avviene prevalentemente attraverso il metabolismo epatico (nel cane mediamente da 34 a 115 mLkg⁻¹ min⁻¹ a seconda degli studi). Essa supera il flusso ematico epatico, suggerendo quindi la presenza di siti extraepatici di metabolizzazione (Cockshott et al., 1992). Il metabolismo extraepatico nell'uomo è stato confermato durante la fase anepatica di pazienti sottoposti a trapianto di fegato (Veroli et al., 1992). Un sito extraepatico di biotrasformazione potrebbe essere il tessuto polmonare. In pazienti umani è stato visto infatti che, durante un'infusione continua di propofol, vi è una riduzione della concentrazione misurata nel passaggio attraverso i polmoni pari a circa il 25% ed una più alta concentrazione del metabolita 2,6-diisopropil-1,4-chinone sul versante arterioso della circolazione (Dawidowicz et al., 2000). In altri due studi condotti su animali (pecore e gatti) (Matot et al., 1993; Kuipers et al., 1999) è stato riscontrata la 'rimozione' a livello polmonare di parte del propofol. Durante studi condotti *in vitro* su rene e intestino tenue umani sono stati osservati microsomi capaci di formare derivati glucuronati del propofol (Raouf et al., 1996). Studi più recenti sembrano confermare l'importanza del ruolo dei reni nella *clearance* extraepatica del propofol, e riconsiderare invece quello dei polmoni (Hiraoka et al., 2005; Takizawa et al., 2005; Chen et al., 2006).

Il metabolismo epatico del propofol presenta differenze interspecifiche. Nel cane il propofol viene eliminato sotto forma di metaboliti inattivi idrosolubili con le urine per circa il 70% (60% nell'uomo) e la restante parte con le feci (bile). A livello epatico parte del propofol viene idrossilato a Quinol (2,6-diisopropil-1-4-idrochinone), metabolita con circa un-terzo dell'attività del propofol (Cockshott, 1985; Simons et al., 1991). La reazione è catalizzata da enzimi citocromo P450 dipendenti, in particolare quello principalmente coinvolto nel cane sembra essere il P450 2B11 (Hay Kraus et al., 2000). Propofol e Quinol subiscono reazioni di glucuronazione e solfatazione con formazione di composti idrosolubili senza alcuna attività ipnotica (Cockshott, 1985; Simons et al., 1991) (**Figura 1.3**). Diversamente da quanto accade per altri anestetici iniettabili, come il tiopentale, il cui metabolismo si satura facilmente comportando accumulo e risvegli ritardati, per il propofol, anche a velocità d'infusione elevate, la capacità della via di glucuronazione è tale per cui la *clearance* non viene compromessa ed i risvegli rimangono relativamente rapidi (Simons et al., 1991). Solamente una piccolissima percentuale di propofol (inferiore all'1%) viene eliminata con le urine in forma attiva immodificata, ed una percentuale altrettanto piccola con le feci (Simons et al., 1985).

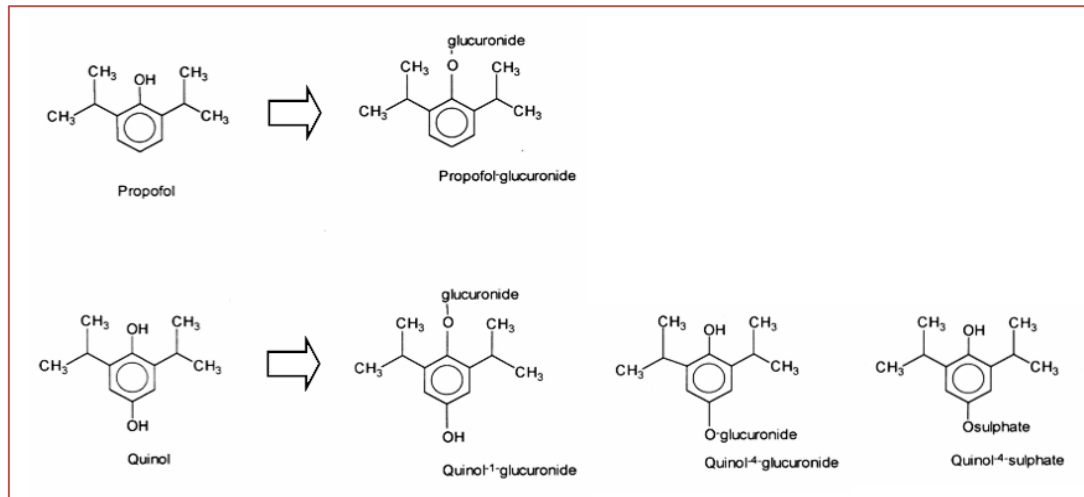


Figura 1.3 Struttura del propofol e dei suoi principali metaboliti derivanti dal metabolismo epatico.

La frazione libera di propofol nel sangue, ovvero la parte farmacologicamente attiva è molto ridotta, circa l' 1.5%. All' interno del range clinico ($0.5-16 \mu\text{g mL}^{-1}$) delle concentrazioni, circa la metà del propofol si trova legato alle siero-proteine (quasi esclusivamente all'albumina) e l'altra metà agli eritrociti (35% all'interno e 16% sulle membrane cellulari). Una condizione di anemia senza una concomitante ipoalbuminemia non altera sensibilmente la frazione libera di propofol in quanto gli eritrociti vengono 'rimpiazzati' dalle proteine. Una ipoalbuminemia (o anche fenomeni di interazione/competizione per i siti di legame tra farmaci) avrebbe invece effetti più rilevanti: si calcola ad esempio che una riduzione del 50% della capacità di legame da parte delle albumine comporti un aumento della frazione libera di propofol di circa il 40% (Mazoit and Samii, 1999). Nei soggetti pazienti con ipoproteinemia (specie se aggravata da anemia) è bene pertanto prestare attenzione alla dose in quanto i livelli della quota attiva di propofol saranno tendenzialmente più alti, e, specie nel caso di somministrazione di boli ripetuti o infusioni prolungate, bisogna aspettarsi un incremento dell'emivita plasmatica con un prolungamento degli effetti.

E' importante ricordare che la farmacocinetica del propofol (come di buona parte dei farmaci) è soggetta a variabilità interindividuale all'interno della stessa specie, ed in particolare nel caso della specie canina essa è notevole considerata la consistente variabilità intraspecifica (basti ad esempio pensare alle profonde differenze tra un cane di razza toy di 10 anni ed un cane di taglia gigante della stessa età). Nell'uomo, ad esempio,

diversi studi hanno messo in evidenza l'esistenza di effetti significativi dell'età e del peso sulla farmacocinetica del propofol. Queste sono state di conseguenza inserite come covariabili distributive nei modelli PK per l'infusione assistita da computer al fine di aumentarne le performance predittive nei diversi pazienti (Marsh et al., 1991; Kataria et al., 1994; Schnider et al., 1998; Schüttler and Ihmsen, 2000; Absalom and Kenny, 2005; van Kralingen et al., 2011). Oltre alle differenze demografiche tra soggetti diversi anche le diverse condizioni clinico-fisiche, quindi la presenza di particolari stati patologici, possono influenzare la PK del propofol. Abbiamo precedentemente visto, ad esempio, i possibili effetti di condizioni quali l'anemia e l'ipoproteinemia, e come l'insufficienza epatica, molto probabilmente in ragione dell'esistenza di siti di metabolismo extraepatico, non rappresenti una controindicazione assoluta all'uso del propofol (Servin et al., 1988; Veroli et al., 1992). Nemmeno l'insufficienza renale rappresenta una controindicazione all'uso del propofol, considerando il ruolo dell'apparato urinario che è prevalentemente quello di eliminazione dei metaboliti idrosolubili e privi di effetti clinici del propofol (Kirvelä et al., 1992; Nathan et al., 1993). Le variazioni della gittata cardiaca, e quindi gli stati patologici che possono influenzarla, possono avere una certa rilevanza, poiché si associano a variazioni delle concentrazioni di propofol nel sangue: l'incremento della gittata porta a una diminuzione della concentrazione e viceversa (Upton et al., 1999). In una condizione di shock emorragico per esempio, le concentrazioni di propofol nel sangue aumentano fino al 20% in caso di shock compensato, e l'aumento è ancora più marcato in caso di shock scompensato (Kazama et al., 2002). Ai potenziali fattori fonte di variabilità farmacocinetica vanno aggiunti anche i possibili fenomeni d'interazione PK con altri farmaci somministrati in concomitanza al propofol (ad oggi, tuttavia, non sono state riportate interazioni clinicamente importanti), e, forse più importanti, gli effetti che altri farmaci (o anche il tipo di procedura chirurgica) possono avere indirettamente sulla distribuzione del propofol nell'organismo e la sua eliminazione, per esempio andando a modificare la perfusione tissutale. In generale quindi, poiché esiste una considerevole variabilità interindividuale sia tra i soggetti sani sia tra quelli malati, è possibile affermare che un'attenta somministrazione ad effetto del propofol è sempre importante al fine di ridurre al minimo il rischio di effetti collaterali (come l'ipotensione o l'ipoventilazione) e per consentire risvegli rapidi.

Il profilo farmacocinetico del propofol nel cane è stato indagato da altri autori in precedenza (Cockshott et al., 1992; Nolan and Reid, 1993; Nolan et al., 1993; Reid and Nolan, 1993;

Zoran et al., 1993; Hall et al., 1994; Mandsager et al., 1995; Beths et al., 2001; Lee et al., 2009). Segue una tabella riassuntiva dei parametri farmacocinetici pubblicati in questi studi, con l'indicazione delle caratteristiche della popolazione di studio (n° animali e razza) e del *design* dello studio (somministrazione di un singolo bolo o infusione di propofol, modello PK bi- o tri- compartimentale) (**Tabella 1.1**). A questi parametri si aggiunge il set di parametri proposti da Beths et al. (2001). Dalla comparazione tra i profili delle concentrazioni predette, ottenuti attraverso simulazione, ed i profili delle concentrazioni di propofol misurate nel sangue, gli autori concludono che nessuno dei modelli PK precedentemente pubblicati fornisce delle previsioni accurate. Utilizzando come base la farmacocinetica dello studio di Cockshott e colleghi (1992), sempre sulla base di simulazioni PK a computer, creano quindi un nuovo modello modificando empiricamente alcuni parametri (**Tabella 1.2**).

	Cockshot et al. 1992	Cockshot et al. 1992	Nolan et al. 1993	Nolan & Reid 1993	Zoran et al. 1993	Zoran et al. 1993	Reid & Nolan 1993	Hall et al. 1994	Mandsager et al. 1995	Lee et al. 2009
<i>Study design</i>	Bolo 3-C	Infus. 3-C	Bolo 3-C	Infus. 2-C	Bolo 2-C	Bolo 2-C	Bolo 2-C	Infus. 2-C	Infusione 2-C	Infus. 3-C
N° animali e razza	3 Beagle	3 Beagle	7 Miste	7 Beagle	8 Miste	10 G-hounds	7 Miste	6 Miste	5 Grey-hounds	30 Beagle
$t_{1/2\alpha}$ (min)	4.2	7.4	1.2	-	7.7	11	0.78	-	-	3.05
$t_{1/2\beta}$ (min)	31	53	14	322	122	176	70	486	74	32.74
$t_{1/2\gamma}$ (min)	303	725	96	-	-	-	-	-	-	314.07
Cl_{TB} (mLkg ⁻¹ min ⁻¹)	76	34	51	50	115	54	40	34	40	50.8
V_1 (mLkg ⁻¹)	1400	1000	486	-	1817	1467	466	-	48	*
V_{ss} (mLkg ⁻¹)	11400	6600	4384	6510	9748	6289	3589	6040	2460	4070
K_{10} (min ⁻¹)	-	-	-	-	0.072	0.044	-	-	-	0.135
K_{12} (min ⁻¹)	-	-	-	-	0.113	0.07	-	-	-	0.045
K_{21} (min ⁻¹)	-	-	-	-	0.018	0.03	-	-	-	0.027
K_{13} (min ⁻¹)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.029
K_{31} (min ⁻¹)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.003

Tabella 1.1 Valori medi dei parametri farmacocinetici pubblicati in letteratura per il propofol nel cane. 3-C Modello tricompartmentale; 2-C Modello bicompartimentale; $t_{1/2\alpha}$, $t_{1/2\beta}$, $t_{1/2\gamma}$ Emivite di distribuzione ed eliminazione; Cl_{TB} Total body clearance; V_1 Volume di distribuzione nel compartimento centrale; V_{ss} Volume di distribuzione allo steady state; K_{10} , K_{12} , K_{21} , K_{13} , K_{31} Costanti di trasferimento tra il compartimento centrale e i compartimenti periferici.

* $V_1 = 3.64 \times (\text{peso corporeo}/10)^{0.831}$ [e.g. per un cane di 10kg $V_1 = 364 \text{ mLkg}^{-1}$]

Parametro	Beths et al. 2001
V_1 (mLkg ⁻¹)	780
Cl_{TB} (mLkg ⁻¹ min ⁻¹)	54.6
K_{10} (min ⁻¹)	0.07
K_{12} (min ⁻¹)	0.0365
K_{21} (min ⁻¹)	0.0312
K_{13} (min ⁻¹)	0.0049
K_{31} (min ⁻¹)	0.0011

Tabella 1.2 Set di parametri farmacocinetici del modello Beths et al. (2001).

1.3 FARMACODINAMICA

Nonostante siano stati esplorati in diversi studi *in vivo* e *in vitro*, gli esatti meccanismi d'azione del propofol non sono ancora pienamente compresi. Le proprietà farmacodinamiche del propofol sono molteplici e verranno di seguito riassunte insieme ai principali effetti collaterali. Sulle orme della medicina umana, le caratteristiche farmacocinetiche e farmacodinamiche favorevoli del propofol, come il rapido *onset*, la possibilità di essere utilizzato in infusione anche per lunghi periodi, i risvegli di ottima qualità, gli scarsi effetti collaterali e la possibilità di essere utilizzato anche in pazienti 'problematici' (e.g. con insufficienze d'organo o con patologie del SNC), han fatto sì che il suo impiego negl'anni si diffondesse anche in ambito veterinario. Ad oggi il propofol è uno dei farmaci più utilizzati in anesthesiologia veterinaria, come agente ipnotico endovenoso, sia in bolo che in infusione, per anestesie e sedazioni di breve e lunga durata.



Figura 1.4 Due esempi di specialità medicinali per uso veterinario in flacone multidose.

Effetti sul sistema nervoso centrale. Il propofol è un potente agente sedativo-ipnotico che interagisce con diversi neurotrasmettitori e recettori del SNC, in modi in parte ancora sconosciuti. Le evidenze accumulate indicano che uno dei principali *target* è la corteccia cerebrale, tuttavia i meccanismi attraverso cui esso determina la perdita di coscienza rimane una questione aperta (Kobayashi and Oi, 2017). Il potenziamento degli effetti mediati dai recettori GABA_A (di inibizione dell'eccitabilità neuronale) è considerato l'effetto principale del propofol, ma sono stati descritti anche effetti modulatori su diversi canali

ionici. Il propofol sembra avere effetti presinaptici (Murugaiah and Hemmings, 1998) postsinaptici (Buggy et al., 2000; Kitamura et al., 2003) ed extra-sinaptici (Kaneko et al., 2016) sui recettori GABA_A, effetti inibitori sui recettori NMDA del glutammato (Orser et al., 1995), effetti diretti sui canali del sodio voltaggio-dipendenti (Martella et al., 2005), su quelli del calcio (Lingamaneni and Hemmings, 2003), ed effetti su diversi tipi di canali del potassio. Per quanto riguarda questi ultimi, particolarmente interessanti sembrano essere gli effetti di modulazione delle correnti dei canali K⁺ Kv2.1, che potrebbero spiegare in parte l'effetto neuroprotettivo del propofol di inibizione dell'apoptosi durante fenomeni di ischemia/ipossia (Zhang et al., 2016).

L'attenuazione del danno neuronale a seguito d'ischemia è stata evidenziata in diversi studi ed i meccanismi potenzialmente coinvolti sembrano essere molteplici (Marik, 2004). Gli effetti depressori sul SNC si traducono in una riduzione del metabolismo cerebrale (quindi del fabbisogno di ossigeno) del 40% circa (effetto dipendente dalla dose, calcolato sull'uomo) (Stephan et al., 1987). Il propofol, inoltre, riduce la pressione intracranica nei pazienti con pressione normale o aumentata, mantenendo però preservata la pressione di perfusione e la capacità di autoregolazione locale del circolo cerebrale (Stephan et al., 1987; Ravussin et al., 1988; Smith and White, 1998a). Alla luce di tutte queste caratteristiche l'uso del propofol dunque risulta particolarmente indicato nei pazienti con patologia intracranica.

Il propofol è un buon rilassante muscolare, probabilmente per una azione spinale diretta, tuttavia rimangono da determinare gli esatti meccanismi ed i neurotrasmettitori coinvolti (Borgeat et al., 1994). Diversamente dagli anestetici inalatori, sembra limitato l'effetto inibitorio sull'eccitabilità degli *alpha*-motoneuroni spinali da parte del propofol, quantomeno all'interno del normale range clinico di concentrazione (Kerz et al., 2001). Potrebbe rivestire un ruolo importante invece, l'azione sui recettori per la glicina, presenti in modo particolare nel tronco encefalico e nel midollo spinale (Dong and Xu, 2002).

Un altro effetto centrale del propofol osservato è quello antiemetico. L'evidenza più diretta di tale proprietà è la riduzione dell'incidenza di nausea e vomito postoperatorio nell'uomo con l'uso del propofol, rispetto all'anestesia con agenti inalatori. Anche in questo caso gli esatti meccanismi d'azione non sono stati chiariti (Borgeat et al., 1994; Sneyd, 2004).

Effetti cardiovascolari. Gli effetti cardiovascolari del propofol sono stati oggetto negli anni di una intensa ricerca, spesso utilizzando il cane come modello sperimentale, con risultati conflittuali (Cattai et al., 2018). La riduzione della pressione sanguigna dopo somministrazione del propofol è un risultato comune. Diversi meccanismi sono stati suggeriti come possibili concause degli effetti emodinamici del propofol alle concentrazioni cliniche comunemente utilizzate: la riduzione del precarico nel ventricolo sinistro a seguito di vasodilatazione venosa diretta (Goodchild and Serrao, 1989; Pagel et al., 1998); la riduzione del postcarico (resistenze vascolari sistemiche) da rilassamento arterioso, come probabile conseguenza dell'inibizione dell'attività del sistema nervoso autonomo simpatico piuttosto che per un effetto diretto (Claeys et al., 1988; Wouters et al., 1995); l'effetto inotropo negativo. Quest'ultimo effetto sembra limitato nel cane quando non si superano le normali concentrazioni terapeutiche (Ismail et al., 1992; Fujinaka et al., 2012). Molto probabilmente quindi, il calo pressorio indotto dal propofol è il risultato diretto della vasodilatazione arteriosa cui potrebbe contribuire anche un effetto indiretto dato dalla venodilatazione (riduzione della gittata cardiaca per diminuzione del ritorno venoso). La vasodilatazione sembrerebbe essere la conseguenza non solo della riduzione del tono simpatico (effetto che è legato non tanto all'anestetico in sé ma alla perdita di coscienza dopo l'induzione dell'anestesia) ma anche per un meccanismo diretto non centrale di interazione periferica con il letto vascolare. In un nostro studio sugli effetti emodinamici del propofol nel cane durante l'induzione, infatti, è stato visto come il picco di depressione pressoria sembri essere correlato al picco plasmatico di concentrazione del propofol piuttosto che al picco effettoriale (Cattai et al., 2018). Si rendono necessari tuttavia ulteriori studi per poter confermare e chiarire i meccanismi molecolari alla base di tale effetto diretto del propofol sui vasi.

Nello stesso studio è stato osservato che, al calo pressorio conseguente alla somministrazione del propofol, corrisponde una risposta compensatoria cronotropica (aumento della frequenza cardiaca) per cui la gittata cardiaca viene mantenuta. Nel cane quindi, il propofol sembra non attenuare il riflesso barorecettoriale arterioso, un importante sistema endogeno di controllo per il mantenimento della stabilità cardiovascolare (Cattai et al., 2018).

Uno studio sugli effetti dell'infusione di propofol nel cane sulla circolazione coronarica ed il metabolismo miocardico evidenzia come questa non abbia effetti avversi sull'autoregolazione coronarica, in quanto viene mantenuto un adeguato bilanciamento

tra il fabbisogno d'ossigeno del muscolo cardiaco e quello fornito (Nakaigawa et al., 1995). Il propofol, anche a dosi che superano quelle comunemente utilizzate nella pratica clinica, non esercita alcun effetto diretto sul sistema di conduzione cardiaco (Ikeno et al., 1999). L'eventuale genesi di bradiaritmie durante il suo utilizzo pertanto, andrà ricercata in altre cause (come ad esempio un effetto indiretto di depressione del tono simpatico, o un aumento del tono vagale per effetto di altri farmaci somministrati in concomitanza).

Effetti sul sistema respiratorio. Il propofol va utilizzato con cautela quando somministrato in pazienti non intubati e ossigenati poiché induce un certo grado di depressione respiratoria (diminuzione del volume tidale e della frequenza respiratoria, fino all'apnea) e inibisce il riflesso della deglutizione. In particolare sembra che, a basse dosi (sedative) la depressione respiratoria sia prevalentemente legata ad un effetto centrale (centro respiratorio bulbare) del propofol (Nieuwenhuijs et al., 2001), mentre a dosi più alte sono coinvolti anche i chemiorecettori dei corpi carotidi (effetto anche periferico) (Ponte and Sadler, 1989). Come per gli effetti cardiovascolari anche quelli respiratori sono dipendenti dalla dose (o meglio dalla concentrazione di farmaco nel sangue), pertanto per ridurre l'incidenza e l'entità del fenomeno è sufficiente calcolare adeguatamente le dosi e considerare le caratteristiche PK del propofol, somministrandolo ad effetto o comunque con velocità adeguata (al fine di evitare picchi di concentrazione plasmatica che superano le normali concentrazioni terapeutiche). Sarà importante quindi considerare anche le caratteristiche del paziente, come il peso, l'età, lo stato clinico-fisico (quindi l'eventuale presenza di patologie che possono interferire con la normale ventilazione), lo stato del sensorio e l'eventuale precedente somministrazione di altri farmaci con effetti sul sistema respiratorio. In caso di utilizzo del propofol per l'anestesia generale è comunque sempre consigliato intubare e supportare con la ventilazione manuale/meccanica il paziente. Il propofol determina un certo grado di rilassamento della muscolatura liscia bronchiale. Tale effetto broncodilatatore (probabilmente diretto) è stato descritto nello specifico anche nel cane (Hirota et al., 1999; Lin et al., 1999).

Altri effetti. Il propofol diminuisce significativamente la pressione intraoculare (del 30-65%) e per questo è tra gli anestetici più indicati per le procedure di chirurgia oftalmica (Schäfer et al., 2002).

Dopo singola dose o infusioni prolungate il propofol non influenza la sintesi dei

corticosteroidi né altera la normale risposta alla stimolazione ACTH-dipendente. Può quindi essere utilizzato per lunghi periodi (per esempio sedazioni in regime di terapia intensiva) senza che ci sia inibizione della fisiologica risposta allo stress da parte del paziente (Van Hemelrijck et al., 1995). Una sorta di effetto 'immunoprotettivo' del propofol è stato visto in uno studio che ne mette a confronto gli effetti immunologici rispetto all'isoflurano, per il mantenimento dell'anestesia nel cane (Tomihari et al., 2015).

Il propofol non sembra avere alcuna azione analgesica classica nei confronti del dolore somatico e viscerale, tuttavia, da alcuni studi è emerso un minor bisogno di analgesia postoperatoria da parte di pazienti anestetizzati con propofol piuttosto che con i classici anestetici inalatori. Un qualche effetto modulatore del propofol, per esempio nei confronti dei fenomeni di iperalgesia e *windup* non si può escludere, tuttavia questo resta un possibile aspetto affascinante del propofol ancora da esplorare (Borgeat et al., 1994; Cheng et al., 2008).

Infine, il propofol possiede interessanti effetti protettivi verso gli organi, legati a proprietà antinfiammatorie e antiossidanti che sono state dimostrate sia *in vivo* che *in vitro* da numerosi studi (Marik, 2004; Li Volti et al., 2017).

Effetti collaterali. In umana il propofol ad oggi è stato somministrato a decine di milioni di pazienti dimostrando un eccellente livello di sicurezza. Le uniche rare complicazioni gravi descritte sono le pancreatiti e la "*propofol infusion syndrome*", molto rara ma potenzialmente fatale, quest'ultima è una complicazione metabolica riportata prevalentemente in pazienti pediatrici (probabilmente geneticamente predisposti) a seguito di infusioni di alte dosi di propofol (Marik, 2004; Kam and Cardone, 2007).

Tra gli effetti indesiderati del propofol degni di nota perché comuni nell'uomo ci sono la cefalea al risveglio ed il dolore locale durante l'iniezione. Per affrontare questo secondo problema sono state proposte nel tempo varie e talvolta bizzarre alternative efficaci, di queste la più comune è la somministrazione preventiva di lidocaina EV (Sneyd, 2004). Difficile dire se questo fastidio sia presente anche negli animali, in parte perché probabilmente scarsamente manifestato se presente, in parte perché solitamente essi vengono premedicati con altri farmaci prima della somministrazione del propofol.

Come effetti indesiderati rari nell'uomo sono riportati movimenti epilettiformi e opistotono durante l'induzione, il mantenimento e il risveglio. La comparsa di movimenti eccitatori involontari probabilmente associati al propofol è stata descritta anche nel cane

da alcuni autori, con un'incidenza elevata (Hall and Chambers, 1987; Davies, 1991; Robertson et al., 1992). Uno studio clinico retrospettivo recente però ne ridiscute i risultati e suggerisce un'incidenza stimata del fenomeno (definito *myoclonus*) nel cane pari al 1.2%. Essi non vanno confusi con i movimenti involontari che comunemente possono insorgere nelle fasi di transizione dell'anestesia come l'induzione ed il risveglio, si sa infatti che durante queste fasi ci può essere eccitazione del SNC indipendentemente dall'uso di agenti anestetici iniettabili o inalatori (specie se non si utilizzano preanestetici e se queste fasi si prolungano eccessivamente). Il fenomeno non va confuso nemmeno con tremori, *paddling* o spasmi muscolari che possono manifestarsi in caso di un insufficiente piano di ipnosi o analgesia (sono infatti non responsivi alla somministrazione di ulteriore propofol e di analgesici ad azione rapida) (Cattai et al., 2015).

Come tutti i composti fenolici il propofol nei felini può indurre anemia da danno ossidativo degli eritrociti (formazione di corpi di Heinz). Il fenomeno compare solo dopo infusioni molto prolungate o somministrazioni ripetute per diversi giorni consecutivi e la sua rilevanza clinica è stata messa in discussione (Bley et al., 2007).

Sebbene abbia fatto la sua comparsa da molto meno tempo rispetto alla medicina umana (e con differenze per le diverse specie animali), se propriamente utilizzato, il propofol sembra mantenere un elevato profilo di sicurezza anche in medicina veterinaria, in particolare nel cane e nel gatto, specie per le quali è più diffuso l'utilizzo nelle strutture veterinarie, e nelle quali è stato maggiormente indagato fino ad oggi (Short and Bufalari, 1999).

TOTAL

INTRA-

VENOUS

ANAESTHESIA

2.1 INTRODUZIONE

Nel 1943 l'anestesia endovenosa venne criticata e descritta come "un metodo ideale di eutanasia", in riferimento all'uso del tiopentone come unico agente per l'anestesia EV dei feriti di guerra durante l'attacco su Pearl Harbor (Halford, 1943). L'anestesia EV sembrò ideale negli ospedali da campo in quella circostanza, poiché il farmaco era di facile trasporto e stoccaggio, inoltre non era infiammabile o esplosivo a differenza dei gas anestetici. Probabilmente, l'uso di dosi non appropriate da parte di personale scarsamente qualificato, unitamente alle caratteristiche dell'anestetico e alle condizioni spesso critiche dei pazienti, furono determinanti nell'alta mortalità riportata da Halford. Oggi, a distanza di tre quarti di secolo, l'utilizzo di agenti anestetici (e analgesici) iniettabili per indurre e mantenere l'anestesia è diventato di uso comune, anche grazie allo sviluppo di molecole con profili farmacocinetici adatti all'uso mediante infusione, come il propofol. L'anestesia totalmente endovenosa (TIVA), ed in particolare la TIVA con propofol, è oggi nel mondo una tecnica popolare in medicina umana e sta diventando sempre più comune anche in campo veterinario, specialmente nell'anestesia del cane (Joubert et al., 2004; Andreoni and Lynne Hughes, 2009; Gimenes et al., 2011a; Caines et al., 2014), del gatto (Boudreau et al., 2012; Campagna et al., 2015; Cattai et al., 2016) e del cavallo (Lerche, 2013).

Una delle prime forze che promosse lo sviluppo della TIVA e delle tecniche d'infusione nel campo della medicina umana fu il maturare della consapevolezza dei possibili effetti avversi sulla salute del personale delle sale operatorie, in seguito ad esposizioni croniche a tracce di gas o agenti anestetici volatili (Morgan, 1983). Ad oggi ed oramai da diversi anni, soprattutto grazie allo sviluppo di tecniche d'infusione che massimizzano la sicurezza anestetica, quali le infusioni assistite da computer (TCI) con controllo del target plasmatico o effettoriale, ed ai diversi vantaggi offerti rispetto all'anestesia gassosa tradizionale (specie in particolari procedure o pazienti), la TIVA è ampiamente utilizzata per l'anestesia del paziente umano (Eikaas and Raeder, 2009; Mani and Morton, 2010; Absalom et al., 2016; Schnider et al., 2016).

L'interesse per la TIVA nelle specie domestiche si accese in particolar modo in seguito all'introduzione del propofol nella pratica veterinaria degli anni ottanta. La pubblicazione negli anni successivi di diversi studi farmacocinetici e farmacodinamici in queste specie ne ha poi favorito la diffusione. In anni recenti, sebbene l'anestesia inalatoria rimanga ancora la più utilizzata in campo veterinario, l'interesse crescente per la TIVA e il suo utilizzo

sempre più diffuso nella routinaria pratica clinica sembra seguire la strada già tracciata in precedenza in medicina umana.

La forma più comune di TIVA nell'uomo, in caso di procedure dolorose, prevede la somministrazione in infusione continua di propofol associata a remifentanil (Eikaas and Raeder, 2009). Anche nel cane e nel gatto diversi studi ne riportano l'utilizzo (Murrell et al., 2005; Padilha et al., 2011a; Gimenes et al., 2011b; Beier et al., 2015), sebbene nell'odierna pratica clinica sia forse più comune il ricorso all'associazione con oppioidi più economici quali il fentanyl o l'alfentanil (Hughes and Nolan, 1999; Mendes and Selmi, 2003; Rasis et al., 2007; Andreoni and Lynne Hughes, 2009; Padilha et al., 2011b), o l'infusione di ketamina a dosi subanestetiche (Reed et al., 2015) o quella di lidocaina (Ortega and Cruz, 2011). Queste associazioni, oltre che consentire un adeguato controllo del dolore, permettono di ridurre le dosi di propofol da infondere (*sparing effect*). Le 'combinazioni' descritte ed utilizzate nel cavallo sono molteplici, per esempio: l'associazione propofol-guaifenesina-medetomidina (PGM-TIVA) o alfaxalone-guaifenesina-medetomidina (AGM-TIVA) (Aoki et al., 2017), l'associazione ketamina-medetomidina-propofol (KMP-TIVA) (Umar et al., 2015), oppure medetomidina-lidocaina-butorfanolo-propofol (MLBP-TIVA) (Ishizuka et al., 2014).

Il futuro della TIVA è destinato a cambiare ed evolversi, di pari passo con l'introduzione e la diffusione di nuovi farmaci e nuove tecnologie per l'infusione assistita ed il monitoraggio dei pazienti. Per quanto riguarda la medicina veterinaria, la strada già tracciata sembra essere quella percorsa dall'anestesiologia in campo umano. A vent'anni di distanza dalla sua introduzione ufficiale nella pratica clinica (con la prima generazione di sistemi, specifici per la somministrazione del propofol Diprivan®), la TCI costituisce attualmente (in Europa e in molti altri paesi del mondo) la tecnica principe per la TIVA nell'uomo ed è tuttora oggetto di numerosi studi volti a svilupparne le ampie potenzialità. Questo tema verrà approfondito nel capitolo successivo.

2.2 BACKGROUND SCIENTIFICO

L'uso sicuro dei farmaci per via endovenosa nell'ambito della clinica anestesologica richiede la comprensione dei processi fisiologici e farmacologici alla base della distribuzione ed eliminazione degli stessi dall'organismo ed una conoscenza approfondita dei loro effetti. La farmacocinetica (PK) descrive le relazioni tra dose di farmaco somministrata e la sua concentrazione plasmatica, in modo semplicistico si potrebbe definire come "ciò che l'organismo fa al farmaco". La farmacodinamica (PD) descrive invece le relazioni esistenti fra la concentrazione plasmatica del farmaco e gli effetti clinici dello stesso, o "quello che il farmaco fa all'organismo". L'arte (o scienza?) dell'anestesista, è quella di scegliere farmaci e dosi per ottenere un adeguato livello di anestesia il più rapidamente possibile e mantenerlo per il tempo strettamente necessario. Modelli matematici PK e PD possono essere d'aiuto per raggiungere questi obiettivi, attraverso la distinzione all'interno della relazione dose-effetto del rapporto tra dose e concentrazione e di quello tra concentrazione ed effetto. Tali modelli, infatti, possono essere utilizzati per predire (con un certo margine d'errore) l'andamento nel tempo della concentrazione plasmatica e dell'effetto di un farmaco, somministrato a boli e/o in infusione. Consentono quindi, con un certo grado di accuratezza, di "aggiustare" la dose del farmaco in qualsiasi momento al fine di ottenere un desiderato grado di effetto e di prevederne la durata.

Molti fattori possono influenzare la PK e la PD dei farmaci. Comprendere i meccanismi farmacologici di base e come questi possono variare nei diversi pazienti può aiutare nella scelta dei protocolli e nella gestione dei farmaci che andiamo a somministrare. Per esempio, un volume di distribuzione centrale diminuito può motivare in parte l'aumentata sensibilità a diversi farmaci iniettabili come spesso si osserva nei pazienti anziani, nei quali il contenuto d'acqua totale dell'organismo è generalmente inferiore. La capacità di *clearance* epatica e renale inoltre solitamente si riduce con l'avanzare dell'età, come conseguenza di ciò, è possibile avere ad esempio un prolungamento della durata d'azione di alcuni farmaci. La percentuale di massa grassa corporea è un altro esempio di fattore che può influenzare la PK, in particolare di farmaci ad elevata lipofilità, con l'aumentare di questa, infatti, può aumentare l'accumulo tissutale del farmaco, con conseguenze sulla durata degli effetti. Anche molti stati patologici possono influenzare la PK e PD dei farmaci, per esempio riducendone la clearance (e.g. insufficienza epatica, insufficienza renale), alterandone la distribuzione (e.g. insufficienza cardiaca), potenziandone l'azione (e.g.

ipoalbuminemia). Infine, non bisogna dimenticare che esiste una variabilità PK e PD innata legata alla genetica.

Importante è anche la conoscenza dell'esistenza delle possibili interazioni PK e PD tra farmaci diversi. Ad esempio, un farmaco con effetti importanti sul sistema cardiovascolare può modificare i normali meccanismi di distribuzione e *clearance* (e.g. riducendo il flusso epatico) di altre molecole somministrate contemporaneamente o poco dopo. Per quanto riguarda le interazioni PD, è ben noto il concetto di *sparing effect*, per cui ad esempio, la premedicazione di un paziente con dei sedativi/tranquillanti, consente di ridurre la dose di anestetico per l'induzione e il mantenimento dell'anestesia. Gli agenti ipno-sedativi e analgesici, infatti, possono influenzare reciprocamente la relazione concentrazione-effetto l'uno dell'altro. Utilizzando in associazione farmaci diversi, è possibile dunque (sfruttandone gli effetti additivi o sinergici) aumentare gli effetti desiderati e ridurre quelli indesiderati, legati all'uso di un singolo agente a dosi elevate. Le interazioni tra farmaci non sempre sono positive, ad esempio, la somministrazione di un agonista parziale (e.g. buprenorfina) seguita dalla somministrazione di un agonista totale degli stessi recettori (e.g. fentanyl) comporta un effetto inferiore a quello che si otterrebbe con la sola somministrazione del secondo.

Raggiungere e mantenere delle concentrazioni costanti di un anestetico o un analgesico nel sangue richiede infusioni a velocità variabili, che considerino i fenomeni distributivi e di *clearance* del farmaco, nonché le covariabili che possono modificare tali fenomeni. Questo è reso possibile dalle infusioni assistite da computer.

Considerazioni farmacocinetiche. La farmacocinetica si propone di descrivere matematicamente i processi di distribuzione dei farmaci dal sito di somministrazione al sangue e agli altri tessuti, e quelli di eliminazione o escrezione dall'organismo. Il profilo PK di un farmaco può essere descritto attraverso emivite di distribuzione ed eliminazione, volume di distribuzione, volume allo *steady-state* e *clearance* metaboliche e distribuzionali (Stanski, 1987). La maggior parte dei farmaci esibisce un comportamento PK multi-compartimentale. I 'compartimenti' hanno basi fisiologiche ma sono delle pure derivazioni matematiche. I modelli PK più semplici (mono-compartimentali) possono essere utilizzati per calcolare i regimi di dosaggio dei farmaci con un'ampia finestra terapeutica somministrati in dose singola o ad intervalli di tempo prolungati (e.g. antinfiammatori o antibiotici). La maggior parte dei farmaci utilizzati in anestesia sono meglio descritti invece

da modelli PK a due o a tre compartimenti (Gepts, 1998).

Nel modello PK mono-compartimentale l'organismo viene rappresentato come un unico compartimento nel quale il farmaco, dopo essere stato somministrato EV, si distribuisce istantaneamente, e dal quale viene eliminato. Il volume di tale compartimento è il volume di distribuzione (V_d). Dopo somministrazione EV di un farmaco, se viene misurata la sua concentrazione nel plasma, conoscendo l'entità della dose è possibile calcolare il volume apparente nel quale il farmaco si è diluito (dividendo la dose per la concentrazione plasmatica). Diversi fattori influenzano il volume di distribuzione di un farmaco, come la sua liposolubilità, il legame farmaco-proteico, i processi di trasporto attivo o di diffusione facilitata e altri. Un farmaco altamente liposolubile tendenzialmente avrà un volume di distribuzione ampio, mentre uno molto idrofilo, che tende a restare confinato nel plasma e nel liquido interstiziale, avrà concentrazioni plasmatiche più elevate a parità di dose somministrata, di conseguenza, un V_d più piccolo. È bene ricordare che il V_d è una variabile tempo-dipendente più che un parametro. Esso dipende infatti dalla concentrazione di farmaco misurata, quindi dal momento in cui questa viene misurata. Nei modelli compartimentali il V_d del compartimento centrale viene calcolato considerando la C_p estrapolata al tempo zero della *disposition curve* (curva concentrazione-tempo). Si assume quindi (irrealisticamente) che corrisponda alla concentrazione risultante dal mix completo del farmaco nel sangue prima che abbiano inizio i fenomeni di distribuzione ed eliminazione. V_{ss} è il volume di distribuzione calcolato quando la concentrazione plasmatica è misurata in condizioni di *steady state*, ovvero di equilibrio (situazione durante un'infusione in cui la C_p è costante e indipendente dalla *clearance* perché compensata esattamente dall'*input* di farmaco) (Toutain and Bousquet-Mélou, 2004a). In un modello multi-compartimentale allo *steady state* è presente la stessa concentrazione nei diversi compartimenti.

La principale applicazione clinica del V_d è per il calcolo della dose di carico al fine di ottenere immediatamente una concentrazione plasmatica di farmaco desiderata (*Cp target*):

$$\text{Loading dose} = C_p \text{ target} * V_d$$

Altro concetto e parametro PK importante è quello di *clearance* (Cl), cioè la capacità dell'organismo di rimuovere un farmaco dal sangue o plasma, definibile come il volume di plasma (o sangue) depurato completamente dal farmaco nell'unità di tempo, o più formalmente come rapporto tra la velocità di eliminazione del farmaco e la sua

concentrazione plasmatica (Toutain and Bousquet-Mélou, 2004b). L'unità di misura è quella dei flussi (e.g. L/min). Se ne deduce come la velocità di eliminazione del farmaco dipenda dalla concentrazione plasmatica dello stesso, ad esempio: se la *clearance* di un determinato farmaco da parte dell'organismo è pari a 1 L/min e la C_p è pari a 1 mg/L, significa che verrà eliminato 1mg di farmaco al minuto, mentre, se la concentrazione plasmatica fosse di 50 mg/L, la velocità sarebbe pari a 50 mg al minuto (Smith and White, 1998b).

Considerando il modello mono-compartimentale per calcolare la velocità d'infusione di mantenimento questa deve compensare l'eliminazione del farmaco dall'organismo, una velocità superiore porterebbe ad accumulo del farmaco:

$$\text{Maintenance infusion rate} = C_p \text{ target} * Cl$$

Nella maggior parte dei casi la *clearance* avviene principalmente attraverso l'escrezione renale e/o il metabolismo epatico (con formazione di metaboliti che possono essere farmacologicamente inattivi, attivi o tossici) e/o escrezione biliare, tuttavia esistono anche altri meccanismi di *clearance* dei farmaci. Solitamente si usa l'espressione *total body clearance* per indicare l'insieme dei diversi meccanismi di eliminazione coinvolti. Un potenziale limite dei modelli compartimentali tradizionali è l'assunzione che il farmaco venga eliminato unicamente dal compartimento centrale. Alcuni però, ad esempio il remifentanil (analgesico infusionale EV), vengono eliminati anche dai tessuti, di conseguenza il modello potrebbe sottostimare la *clearance* e sovrastimare le C_p del farmaco (Billard, 2015).

Altro concetto PK importante è quello di tempo di emivita ($t_{1/2}$), cioè il tempo necessario affinché la concentrazione plasmatica del farmaco dimezzi il proprio valore. Il modello mono-compartimentale si considera una singola emivita, detta di eliminazione (o terminale), mentre i modelli a più compartimenti considerano anche le emivite di distribuzione. L'emivita di eliminazione è determinata dalla *clearance* e dal volume di distribuzione allo *steady state*:

$$\text{Elimination half-life} = (0,693 * Vd_{ss}) / Cl$$

per i modelli a due e a tre compartimenti l'equazione è più complessa (Stanski, 1987).

Il modello a due compartimenti prevede oltre al compartimento centrale (sangue e tessuti che raggiungono rapidamente l'equilibrio) un secondo compartimento periferico (tessuti che raggiungono l'equilibrio più lentamente, generalmente perché meno perfusi).

La *disposition curve* è caratterizzata da una risposta bifasica. La fase di distribuzione rappresenta l'equilibratura tra i due compartimenti. Le costanti di velocità (di primo ordine) che caratterizzano l'eliminazione e la distribuzione tra i due compartimenti si vengono definite K_{10} , K_{12} e K_{21} .

Il modello a tre compartimenti verrà di seguito trattato in modo approfondito.

Un limite dei modelli PK compartimentali è che si basano sull'assunto che ci sia un mix istantaneo del farmaco somministrato EV nel compartimento centrale, possono quindi risultare inaccurati nel descriverne la cinetica nelle primissime fasi dopo la somministrazione (Reekers et al., 2003). Ci sono farmaci infatti che subiscono fenomeni di *uptake* polmonare. Non considerare i meccanismi di *mixing* iniziale inoltre potrebbe portare a stime inaccurate del volume del compartimento centrale. Questi modelli, inoltre, non tengono conto della possibile influenza da parte delle variazioni di flusso (*cardiac output*) sulla distribuzione del farmaco (Upton et al., 1999; Adachi et al., 2001). Sono stati proposti modelli fisiologici (*Physiologically Based PK* o *Recirculatory PK*) per cercare di descrivere più accuratamente la cinetica del farmaco nei primi minuti dalla somministrazione, tuttavia ad oggi, quelli tradizionali compartimentali rimangono ampiamente più utilizzati in virtù della loro maggiore semplicità, riproducibilità e robustezza matematica (Engbers, 2003).

Modello PK tricompartimentale. In un modello a tre compartimenti il farmaco viene somministrato nel, ed eliminato dal, compartimento centrale (V_1), che rappresenta il sangue ed i tessuti che raggiungono l'equilibrio di concentrazione con il plasma molto rapidamente, come il cuore, i polmoni e il cervello, ovvero gli organi generalmente ben perfusi. Il compartimento centrale è connesso ad altri due compartimenti, quello periferico rapido (V_2), corrispondente ai tessuti a perfusione intermedia, quali i muscoli ad esempio, e quello periferico lento (V_3), più grande degli altri, per i tessuti meno perfusi (principalmente dal tessuto adiposo). La somma di V_1 , V_2 e V_3 ci dà il volume di distribuzione allo *steady state* (V_{ss}). Dopo la somministrazione il farmaco si distribuisce nei compartimenti periferici, più rapidamente in V_2 e più lentamente in V_3 , e da questi a sua volta si ridistribuisce nel compartimento centrale. Le costanti intercompartimentali (K_{12} , K_{21} , K_{13} , K_{31}) descrivono il trasferimento del farmaco tra i compartimenti, la costante di eliminazione (K_{10}), invece, fa riferimento ai processi di rimozione irreversibile del farmaco da V_1 . Nel modello a tre compartimenti, l'andamento in funzione del tempo delle

concentrazioni del farmaco è rappresentato da un'equazione tri-esponenziale (**Figura 2.1**):

$$Cp_t = A * e^{-\alpha t} + B * e^{-\beta t} + C * e^{-\gamma t}$$

dove Cp_t rappresenta la concentrazione plasmatica ad un tempo "t" qualsiasi, l'esponenziale $A * e^{-\alpha t}$ il processo PK di distribuzione più rapido, $B * e^{-\beta t}$ il processo distributivo più lento e $C * e^{-\gamma t}$ quello di eliminazione. A, B e C sono le concentrazioni plasmatiche al tempo zero delle tre fasi, α , β e γ le costanti di velocità delle tre fasi. Subito dopo la somministrazione EV la Cp diminuisce per la distribuzione del farmaco ai tessuti e per effetto della *clearance*. Possiamo quindi distinguere una prima fase di distribuzione rapida (α), corrispondente ad una maggior pendenza della curva, nella quale la caduta rapida della Cp dipende principalmente dal passaggio del farmaco da V_1 a V_2 oltre che dalla sua eliminazione. Segue una fase di distribuzione lenta (β), nella quale il declino è principalmente il risultato del trasferimento del farmaco da V_1 verso V_3 , della *clearance* e della ridistribuzione da V_2 a V_1 . Infine, segue una fase terminale (γ), in cui il calo della Cp procede in modo lento e la curva riduce progressivamente la sua pendenza, determinata fondamentalmente dall'eliminazione del farmaco dall'organismo e dalla ridistribuzione dello stesso dai compartimenti periferici a quello centrale (Smith and White, 1998b).

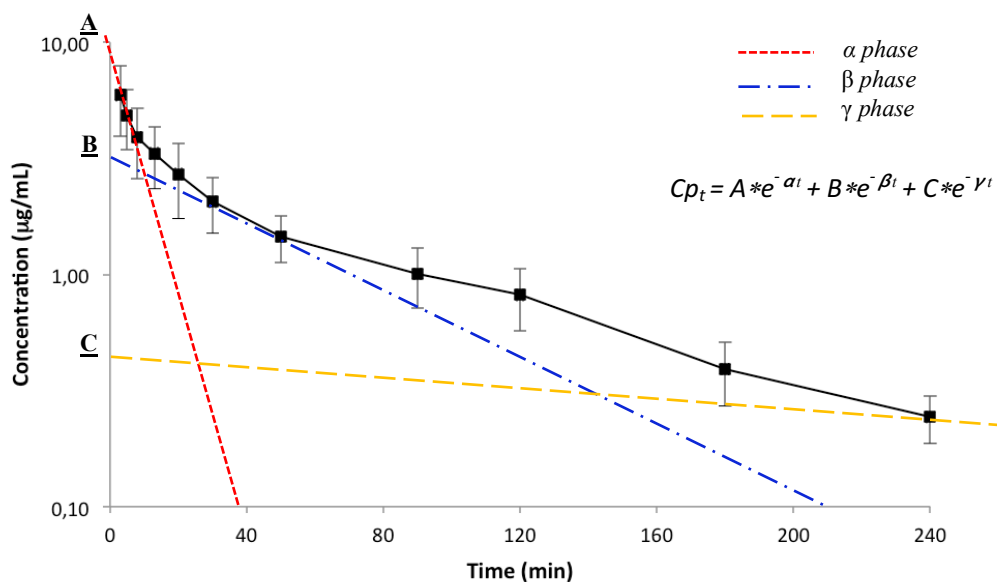


Figura 2.1 Declino tri-esponenziale della concentrazione plasmatica nel tempo del propofol nel gatto dopo singolo bolo EV (Cattai et al., 2016). A, B e C sono le intercette estrapolate al tempo zero della fase di distribuzione rapida, di quella lenta e della fase terminale rispettivamente.

I modelli PK tri-compartmentali descrivono l'andamento nel corso del tempo della concentrazione plasmatica, ma l'effetto clinico del farmaco nel corso del tempo risulta quasi sempre ritardato rispetto alla concentrazione ematica poiché il sito d'azione generalmente non è il sangue. Per modellare l'andamento nel tempo dell'effetto è possibile introdurre un ipotetico quarto compartimento PD, che si assume essere sincronizzato con gli effetti del farmaco e possedere un volume trascurabile. La relazione tra plasma e sito effettore viene descritta da una costante definita K_{e0} , che 'trasforma' il modello PK in un modello PKPD (Billard, 2015; Struys et al., 2016) (**Figura 2.2**).

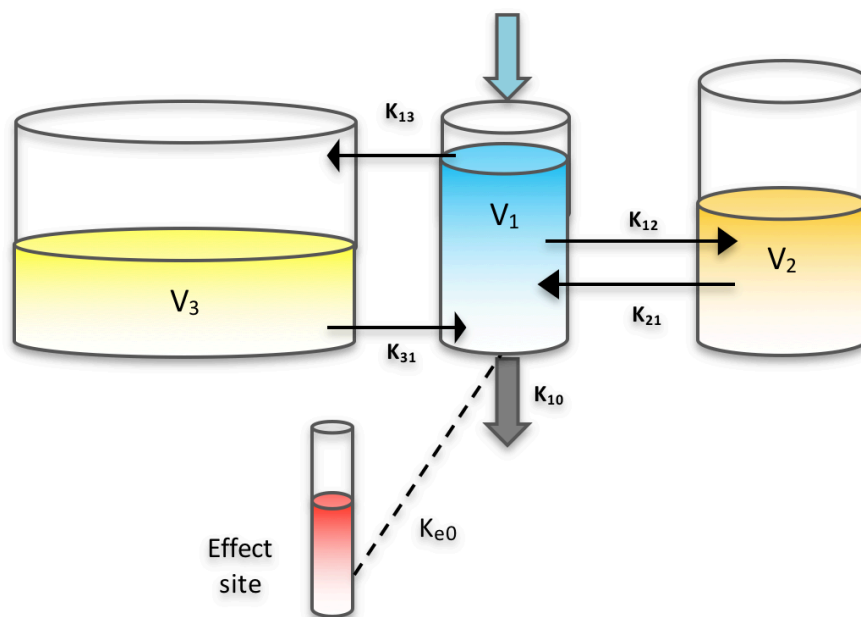


Figura 2.2 Modello farmacocinetico tri-compartmentale con incorporato il compartimento effettore (PKPD model). Volume del compartimento centrale (V_1), periferico rapido (V_2) e periferico lento (V_3). Costanti intercompartimentali di trasferimento del farmaco (K_{12} , K_{21} , K_{13} , K_{31}), di eliminazione (K_{10}) e di equilibrio tra plasma e sito effettore (K_{e0}).

Considerazioni farmacodinamiche. La farmacodinamica studia l'effetto biologico dei farmaci nel corso del tempo, i loro meccanismi d'azione, e le relazioni tra concentrazione plasmatica ed effetti clinici. La comprensione della farmacocinetica consente all'anestesista di regolare lo schema di somministrazione per controllare la concentrazione del farmaco nel sito effettore nel presente e nel futuro (e.g. controllo del risveglio). La comprensione della farmacodinamica (relazione tra concentrazione ed intensità degli effetti) aiuta a gestire la somministrazione del farmaco in relazione alle necessità individuali del caso (Billard, 2015).

Gli effetti terapeutici/collaterali di un farmaco possono essere quantali, ovvero presenti o assenti, come la perdita di coscienza e l'assenza di risposta all'incisione (essi non sono quantitativi ma la loro probabilità di comparsa sì). Altri effetti, come ad esempio il livello di blocco neuromuscolare o il grado di depressione respiratoria, sono invece di tipo quantitativo e misurabili. Ci sono poi alcuni effetti non rilevanti dal punto di vista clinico ma che possono fungere da surrogati misurabili di *end-points* clinici (in quanto strettamente correlati con effetti terapeutici), ad esempio il *Bispectral Index* (BIS), un parametro EEG spesso utilizzato per valutare la profondità del piano anestetico. In tutti i casi, l'intensità (o la probabilità) dell'effetto aumenta con la concentrazione e la relazione tra concentrazione nel sito effettore ed effetto può venire rappresentata (nella maggior parte dei casi) attraverso un modello sigmoidale descritto da Hill più di un secolo fa (**Figura 2.3**) (Holford and Sheiner, 1981).

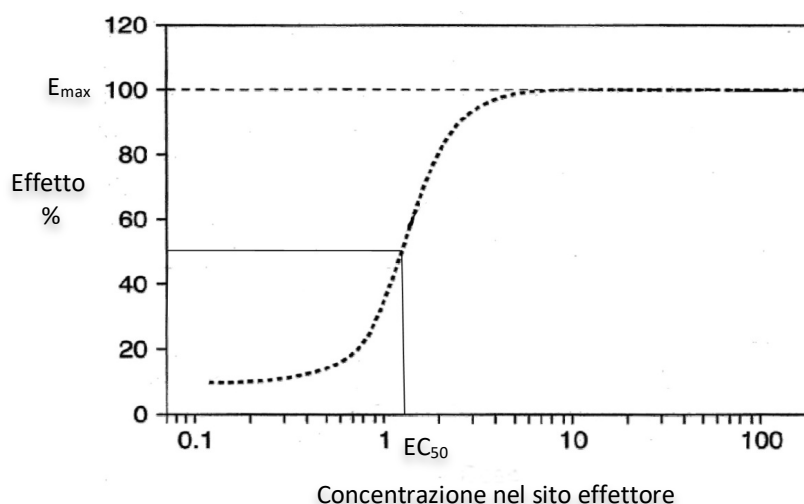


Figura 2.3 Curva concentrazione-risposta di un farmaco.

Come si può vedere, esiste una concentrazione che produce il massimo effetto (E_{max}), una volta raggiunto il quale l'ulteriore aumento della concentrazione non produce alcun effetto aggiuntivo. EC_{50} rappresenta la concentrazione nel sito effettore alla quale l'effetto è pari alla metà dell'effetto massimo e viene solitamente utilizzato come un indice di potenza del farmaco quando lo si confronta con altri aventi effetti simili. La potenza fa riferimento alla relazione tra concentrazione effettoriale ed effetto, la relazione dose-effetto invece, è influenzata anche da fattori farmacocinetici. Inoltre, la potenza non è sinonimo di efficacia, che dipende invece da E_{max} . Un farmaco con potenza ridotta può raggiungere lo stesso E_{max} di un altro a potenza maggiore, con una dose sufficientemente elevata, mentre un farmaco

con un ridotto E_{max} sarà di solito meno efficace nel produrre un determinato effetto, anche a concentrazioni molto elevate. Nella pratica clinica, l'obiettivo solitamente non è ottenere l'effetto massimo ma rimanere nella parte alta della curva (EC_{95} per e.g.), questo perché ottenere percentuali maggiori richiederebbe concentrazioni molto più alte in questa parte 'piatta' della curva di Hill, con un aumento correlato del rischio di effetti avversi (Smith and White, 1998b; Billard, 2015).

PK e PD condividono un aspetto comune, le concentrazioni plasmatiche, che riflettono l'azione del farmaco nel sito effettore (che solitamente non è il plasma). Gli effetti biologici si realizzano nel cosiddetto compartimento effettore o biofase, tuttavia, generalmente la concentrazione del farmaco è difficilmente misurabile direttamente nel sito d'azione per cui si ricorre alla quantificazione delle C_p (Riviere et al., 2016). Come già accennato, il ritardo di equilibratura tra C_p e concentrazioni nel sito effettore può essere descritto matematicamente con la costante K_{e0} (Gepts, 1998). Il valore di tale costante può essere determinato mediante complessi studi PK/PD che mettono in relazione le C_p con misurazioni frequenti degli effetti clinici (e.g. parametri evocati EEG, BIS, potenziali evocati uditivi). E' inoltre possibile ricavare K_{e0} attraverso l'osservazione e lo studio del *time to peak effect* (t_{peak}) dopo somministrazione di un bolo (Struys et al., 2016). È bene ricordare che diversi fattori oltre alle caratteristiche farmacologiche intrinseche (e.g. il tipo di legame recettoriale, il grado di liposolubilità o di ionizzazione) possono influenzare la K_{e0} (e.g. il *cardiac output* o il flusso ematico cerebrale), che è quindi soggetto ad un certo grado di variabilità anche quando riferito allo stesso farmaco. Il t_{peak} (tempo necessario per raggiungere il picco d'effetto/di concentrazione nel sito effettore) è un indicatore dose-indipendente ma PK dipendente del tempo di *onset* dell'effetto di un farmaco dopo somministrazione EV di un bolo. Assumere che un farmaco con una K_{e0} maggiore (quindi un tempo di equilibratura più breve) avrà sempre un *onset* più rapido di un farmaco con K_{e0} minore, non è corretto. Questo è vero solo se i due farmaci a confronto hanno identiche PK plasmatiche (Minto and Schnider, 2008).

Nel modello PKPD con sito effettore (**Figura 2.2**), il 'quarto compartimento' è essenzialmente un concetto virtuale che serve a descrivere gli effetti di un farmaco nel corso del tempo. Esso è un compartimento privo di volume che non influenza la PK plasmatica del farmaco, nonostante si assuma che esso si muova in tale compartimento e da questo venga eliminato (da cui la non necessità di utilizzare costanti di trasferimento separate e il ricorso alla sola K_{e0}). L'utilizzo clinico principale di questi modelli PKPD in

anestesia, come verrà approfondito in seguito, è sicuramente quello per la TCI. Quando i farmaci generano metaboliti attivi a concentrazioni rilevanti, con diversa PK e/o potenza, dovrebbero essere utilizzati modelli più sofisticati (Billard, 2015).

2.3 APPLICAZIONE CLINICA

La finalità principale dell'anestesia endovenosa è quella di ottenere concentrazioni stabili dei farmaci nel sangue (quindi nel sito effettore) per avere degli effetti adeguati, prevedibili e facilmente controllabili. Le dosi somministrate dovrebbero essere sufficientemente 'grandi' per raggiungere l'effetto terapeutico desiderato ma anche sufficientemente 'piccole' per evitare effetti avversi e risvegli prolungati. Più ampia è la 'finestra terapeutica' più sicuro è il farmaco, tuttavia, anche per i moderni anestetici con ampio margine di sicurezza come il propofol, tale 'finestra' potrebbe essere ristretta in alcuni pazienti, in relazione a diversi fattori come le caratteristiche demografiche, lo stato clinico-fisico o il tipo di procedura cui viene sottoposto il paziente.

TIVA, le tecniche. Per l'induzione dell'anestesia, il metodo più comunemente utilizzato è quello di somministrare manualmente l'anestetico (solitamente il propofol), osservandone l'effetto e interrompendo la somministrazione una volta raggiunto l'*endpoint* desiderato. Così facendo, poiché il passaggio dell'anestetico dal circolo al sito effettore richiede del tempo, una relativa overdose viene presumibilmente somministrata al paziente e può esitare in effetti collaterali come ipotensione o apnea. Per limitare tale evenienza quindi, nel somministrare l'anestetico è opportuno concedere il tempo per il raggiungimento dell'equilibrio tra plasma e biofase. Il t_{peak} del farmaco quindi è sicuramente un'utile informazione per la scelta della dose e di una velocità di somministrazione adeguata.

Per il mantenimento dell'anestesia, l'anestetico iniettabile può essere somministrato mediante boli ripetuti nel tempo oppure mediante infusione continua. La somministrazione di boli intermittenti ha il vantaggio di non richiedere un'attrezzatura particolare ma tende a risultare in elevati volumi totali di farmaco somministrato, in risvegli ritardati e in anestesi di qualità scadente a causa delle rilevanti oscillazioni delle concentrazioni dell'anestetico nel plasma (White, 1989; Miller, 1994).

La somministrazione mediante infusione continua consente di ottenere anestesi più stabili e di qualità migliore, giacché permette di mantenere più costanti nel tempo le C_p dell'anestetico, inoltre, risulta generalmente in una riduzione della quantità totale di anestetico utilizzato e quindi in risvegli più rapidi. Lo stesso concetto può essere esteso anche alla somministrazione EV di analgesici e rilassanti muscolari: minimizzando le

fluttuazioni della C_p (e nel sito effetore) dei farmaci, l'infusione, rispetto alla somministrazione in boli, riduce il rischio di sovra/sotto-dosaggio, quindi di effetti collaterali/inefficacia terapeutica rispettivamente (Gepts, 1998; Smith and White, 1998c) (Figura 2.4).

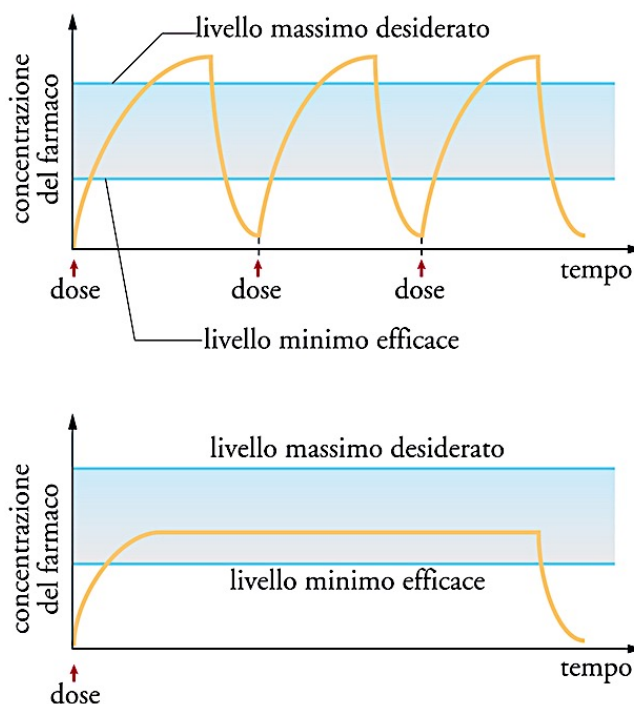


Figura 2.4 Andamento nel tempo della concentrazione plasmatica di un farmaco somministrato in boli ripetuti (in alto) e infusione (in basso): l'infusione consente di limitare le fluttuazioni della concentrazione al di fuori della finestra terapeutica, che possono esitare in effetti indesiderati o inefficacia.

Le infusioni possono essere controllate manualmente o assistite da un computer software (TCI), in entrambi i casi è necessario disporre di una pompa per infusione a siringa. La tecnica infusione più semplice è l'infusione continua a velocità costante (*constant rate infusion* o CRI). Quando un farmaco viene somministrato in infusione a una velocità fissa, esso impiega circa cinque emivite di eliminazione (ovvero il tempo necessario alla C_p per diminuire del 50%) per raggiungere lo *steady state*. Per arrivare allo stadio di equilibrio compartimentale più rapidamente solitamente si somministra un bolo iniziale "di carico", per poi proseguire con l'infusione per il mantenimento della concentrazione plasmatica raggiunta (Stanski, 1987; Mani and Morton, 2010).

Come visto in precedenza, basandosi su di un modello mono-compartimentale per determinare la dose necessaria ad ottenere una desiderata concentrazione plasmatica (quindi per stabilire l'entità del bolo di carico) e per calcolare poi la velocità d'infusione necessaria a mantenere tale concentrazione costante, le formule sono relativamente semplici ($Dose\ di\ carico = C_p\ target * V_d$; $Dose\ di\ mantenimento = C_p\ target * Cl$).

La maggior parte dei farmaci endovenosi utilizzati in ambito anestesilogico però, meglio si adatta ad essere descritta da modelli PK multi-compartimentali, ed il calcolo delle dosi in questi casi diventa complesso. Per questi farmaci, come ad esempio il propofol o il fentanyl, un bolo seguito da una CRI non risulterà in una concentrazione costante nel plasma e nel sito effetore. L'infusione, infatti, dovrebbe essere inizialmente più elevata per compensare i meccanismi di distribuzione rapida del farmaco, per poi venire gradualmente ridotta al pari della velocità dei processi di distribuzione, che con l'avvicinarsi dello *steady state* rallentano.

Si parla di VRI (*variable rate infusion*) quando l'infusione manuale viene 'aggiustata' da parte dell'anestesista secondo necessità sulla base della sua esperienza e delle valutazioni effettuate sul paziente nel corso dell'infusione. Quando le variazioni della velocità di somministrazione sono standardizzate all'interno di uno schema infusionale fisso, basato sulla PK del farmaco e che si propone di mantenere costante la C_p desiderata (target), si parla di *stepped-infusion* (**Figura 2.5**). Questi schemi d'infusione manuale sono solitamente semplificati a un numero ridotto di *steps* per renderli più pratici, e in alcuni casi possono garantire livelli plasmatici di farmaco relativamente costanti senza tecnologie avanzate. Tuttavia, la *stepped-infusion* spesso risulta troppo poco flessibile e difficile da adattare alle diverse situazioni cliniche, nonché risulta difficoltoso sovrapporre dei cambiamenti in risposta agli effetti clinici (Miller, 1994; Gepts, 1998; Smith and White, 1998c).

Con la più moderna tecnica d'infusione, la *target controlled infusion* o TCI, è possibile ottenere C_p relativamente stabili nel tempo ed allo stesso tempo modificarle in corso d'infusione per adattare alla risposta clinica del paziente e alle necessità anestesilogiche del momento (variazione del target). Nella TCI l'infusione del farmaco è assistita da un computer-software sulla base di algoritmi matematici e di specifici (per il farmaco infuso e per la popolazione in cui viene infuso) modelli PK. Questi modelli (o set di parametri) PK servono per il calcolo continuo e in tempo reale da parte del software della velocità d'infusione necessaria per raggiungere e mantenere una selezionata concentrazione target (plasmatica o effettoriale). In qualsiasi momento l'anestesista potrà modificare il target

desiderato, il computer continuerà a gestire il regime d'infusione affinché il nuovo target venga raggiunto e mantenuto stabile. La TCI verrà approfondita nel terzo capitolo di questa tesi.

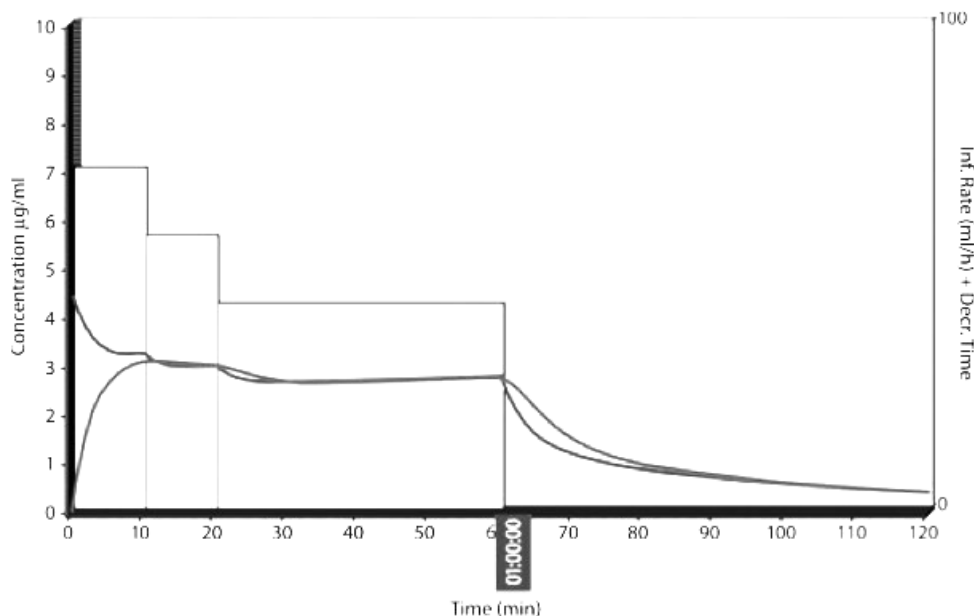


Figura 2.5 Esempio di schema d'infusione manuale, ideato per mantenere, in un uomo sano di 40 anni e 70 Kg, una concentrazione di propofol pari a $3\mu\text{g/ml}$ circa: bolo di carico di 1mg/Kg , seguito da 10mg/Kg/h per 10min, 8mg/Kg/h per 10min, poi 6mg/Kg/h fino ai 60min, quando l'infusione viene interrotta. La C_p (linea più scura) massima è di $4,5\mu\text{g/ml}$. La concentrazione nel sito effetore raggiunge i $3\mu\text{g/ml}$ dopo circa 10min (Mani and Morton, 2010).

TIVA, indicazioni elettive. Quando si parla di TIVA nella stragrande maggioranza dei casi si fa riferimento all'infusione di propofol, come unico agente oppure (più comunemente) in associazione ad altri farmaci per via endovenosa. Il propofol può essere somministrato non solo per indurre e mantenere l'anestesia, ma anche a dosi sub-ipnotiche per ottenere stati di sedazione la cui profondità è dose-dipendente. In ambito veterinario sono molte le situazioni cui si presta ottimamente questo utilizzo del propofol, basti pensare a tutti quei casi in cui si rende necessaria la 'collaborazione' e la quasi immobilità da parte dell'animale (e.g. per esami di diagnostica per immagini, per prelievi o campionamenti, medicazioni, bendaggi o altre manualità terapeutiche, radioterapia, ecc.). Lo stato di sedazione propofol-indotto si associa a minima depressione cardiovascolare e respiratoria. L'infusione, per le ragioni precedentemente discusse, è da preferire alla somministrazione di boli ripetuti (rischio inferiore di depressione cardio-respiratoria,

controllo migliore della profondità della sedazione e del risveglio, minor consumo di farmaco) (Glowaski and Wetmore, 1999; McKeage and Perry, 2003; Karan and Bailey, 2004).

Come visto nel capitolo 1.3, il propofol è un potente agente ipnotico EV con proprietà antiossidanti, anti-infiammatorie e broncodilatatorie. Inoltre, riduce il consumo cerebrale di ossigeno, riduce la pressione intracranica senza ridurre la pressione di perfusione cerebrale e ha rilevanti proprietà anticonvulsivanti. Queste proprietà rendono la TIVA con propofol particolarmente indicata nella gestione di pazienti con patologia intracranica, stati epilettici, stati asmatici, sepsi. Nelle unità di terapia intensiva umana la TIVA con propofol è solitamente la prima scelta per i pazienti con sospetto di danno cerebrale, e tra le prime scelte per il trattamento delle convulsioni ed in particolare degli stati epilettici refrattari. Considerate le proprietà favorevoli del propofol, inoltre, viene utilizzata preferenzialmente per la sedazione dei pazienti con attacchi d'asma e COPD (*chronic obstructive lung disease*) (Claassen et al., 2002; Marik et al., 2002; Marik, 2004). Oltre alle proprietà antinfiammatorie e antiossidanti il propofol sembra inibire la produzione di ossido d'azoto (NO) da parte della NO sintetasi inducibile (iNOS), normalmente inattiva nel paziente sano ma particolarmente attiva invece nel paziente con sepsi. E' stato visto, in animali (ratti) endotossiemici trattati con propofol, che la pressione sistolica si mantiene più alta rispetto a quelli trattati con placebo (Taniguchi et al., 2000). La TIVA con propofol quindi, considerato il profilo terapeutico potenzialmente vantaggioso, trova indicazione nell'anestesia del paziente settico (Marik, 2004).

La TIVA con propofol va sicuramente annoverata tra le prime scelte in caso di pazienti a rischio d'ipotensione/ipoperfusione durante l'anestesia (e.g. pazienti con ridotta funzionalità cardiaca). L'effetto ipotensivo del propofol sembra essere concentrazione-dipendente e comunque limitato, alle concentrazioni normalmente utilizzate in anestesia. Da uno studio sugli effetti cardiovascolari dell'infusione di propofol nel cane, risulta che l'aumento della Cp fino a valori di molto superiori a quelli comunemente raggiunti durante una TIVA, sebbene mostri una tendenza della pressione arteriosa media a diminuire, non si associa alla comparsa di ipotensione o bradicardia significative (Silva et al., 2011). Inoltre, da studi nel cane è stato visto come il propofol sembra offrire una serie di altri vantaggi a livello cardiovascolare: non attenua il riflesso barorecettoriale arterioso, importante sistema endogeno di controllo per il mantenimento della gittata cardiaca (Cattai et al., 2018); non incide sul postcarico e sulle performance ventricolari, preservando

l'accoppiamento ventricolo-arterioso sinistro (*LVA coupling*) (Deryck et al., 2010); non ha effetti negativi sull'autoregolazione coronarica, mantenendo un adeguato bilanciamento tra domanda e offerta d'ossigeno al muscolo cardiaco (Nakaigawa et al., 1995).

Un'altra applicazione clinica riportata in medicina umana è l'infusione di propofol a dosi sub-ipnotiche per il trattamento del prurito indotto da oppioidi o associato a patologia epatica (Borgeat et al., 1994).

TIVA, confronto con l'anestesia inalatoria. Alcuni tra i benefici principali della TIVA possono essere così riassunti:

- Possibilità di ottenere in continuità un livello clinico d'ipnosi ampio (per e.g. passare da una sedazione leggera peri-operatoria ad un'anestesia chirurgica e viceversa) e di approfondimento rapido qualora necessario (e.g. in caso d'improvvisa superficializzazione del paziente).
- Possibilità di mantenere un livello anestesilogico stabile anche durante le fasi di trasporto (ventilando il paziente con pallone di AMBU all'occorrenza).
- Facilità d'esecuzione dell'anestesia legata all'utilizzo di un solo anestetico per l'induzione e il mantenimento e assenza dei potenziali rischi connessi all'alternare l'uso di un agente anestetico iniettabile con uno gassoso.
- Assenza di rischi per la salute del personale connessi al possibile inquinamento ambientale da agenti anestetici volatili (e.g. in caso di perdite nel circuito respiratorio o nelle fasi di disconnessione dal circuito e di risveglio del paziente, o durante procedure medico-diagnostiche delle vie aeree).

Diversi studi nel cane sulla TIVA di propofol, con o senza altri farmaci co-infusi, hanno evidenziato come questa tecnica sembri essere più vantaggiosa e sicura rispetto all'anestesia con anestetici gassosi (isoflurano o sevoflurano) relativamente alla funzione cardiovascolare (Keegan and Greene, 1993; Deryck et al., 1996; Tsai et al., 2008; Deryck et al., 2010; Iizuka et al., 2013; Caines et al., 2014;). Dallo studio di Tsai e colleghi (2008), su 271 cani con grado variabile di rischio anestetico e mantenuti in anestesia (per procedure diagnostiche o chirurgiche) o con isoflurano o con TIVA di propofol, è emerso come i secondi mostrino generalmente una minore depressione cardiovascolare, specie i pazienti a più alto rischio anestetico (ASA 2 e 3). Gli autori suggeriscono di considerare più

appropriata la TIVA con propofol rispetto all'anestesia inalatoria per pazienti con patologie sistemiche da moderate a gravi, considerato il minor impatto sulle performance emodinamiche. Caines e colleghi (2014), in uno studio comparativo tra cani con patologia intracranica sottoposti a risonanza magnetica e anestetizzati con propofol o con isoflurano, hanno osservato come il mantenimento con propofol risulti vantaggioso dal punto di vista cardiovascolare (garantendo pressioni arteriose più elevate e riducendo la richiesta di dopamina rispetto all'isoflurano). Risultati simili sono riportati negli studi di Keegan & Green (1993) e Deryck et al. (1996), nei quali si osserva come la TIVA con propofol rispetto all'isoflurano meglio preservi le resistenze vascolari sistemiche e la pressione arteriosa nel paziente. Lo stesso autore, in un altro studio evidenzia come il mantenimento dell'anestesia con propofol meglio preservi il LVA *coupling*, rendendolo preferibile al sevoflurano nei pazienti con funzionalità del ventricolo sinistro compromessa (Deryck et al., 2010).

La TIVA con propofol in associazione al fentanyl in infusione (una delle più comuni nell'anestesia del cane e del gatto) sembra offrire condizioni soddisfacenti per procedure chirurgiche di vario tipo unitamente ad un'ottima stabilità cardiovascolare (Andreoni and Lynne Hughes, 2009). Inoltre, sia nel cane che nel gatto, si è visto come la TIVA propofol-fentanyl sia più vantaggiosa rispetto all'infusione di fentanyl associata ad anestesia gassosa, garantendo una maggiore stabilità cardiocircolatoria e un minor rischio d'insorgenza di ipotensione, anche in animali politraumatizzati (pazienti che spesso presentano una riserva cardiorespiratoria ridotta, e.g. per stress, emorragie, danni tissutali, traumi toracici) (Liehmann et al., 2006; Iizuka et al., 2013).

L'assorbimento degli agenti inalatori è legato alla funzionalità dell'apparato respiratorio, di conseguenza, in pazienti con pneumopatie e alterazione del rapporto ventilazione-perfusione, esiste il rischio di *uptake* irregolare dell'anestetico. In queste situazioni, l'uso della TIVA può risultare più sicuro e garantire maggiore stabilità del livello di anestesia. Inoltre, diversamente dagli alogenati, la TIVA con propofol non inibisce il riflesso (vasocostrittore) ipossico polmonare, garantendo una migliore compensazione di un eventuale shunt intrapolmonare in corso d'anestesia (Abe et al., 1998). Rispetto all'anestesia gassosa con sevoflurano, è stato visto anche che, in pazienti umani sottoposti a resezione di cancro polmonare, il mantenimento dell'anestesia con propofol riduce la risposta infiammatoria perioperatoria e garantisce una migliore protezione della funzione polmonare (Tian et al., 2017). Rispetto all'anestesia gassosa, quindi, la TIVA risulta

potenzialmente più vantaggiosa nel caso di anestesi su pazienti affetti da gravi patologie polmonari, anestesi per chirurgia toracica (e.g. interventi in ventilazione monopolmonare), o procedure delle prime vie aeree (e.g. broncoscopie), e in tutti i casi in cui la somministrazione del gas può risultare difficoltosa.

Sia nell'uomo che nel cane la TIVA di propofol, rispetto all'anestesia inalatoria, offre risvegli di qualità superiore, con comparsa di effetti indesiderati, come fenomeni eccitatori, delirio, nausea/vomito associati al risveglio, molto rara (Tsai et al., 2007; Lerman and Jöhr, 2009; Mani and Morton, 2010; Caines et al., 2014).

Quando si ricorre all'anestesia inalatoria, la concentrazione di anestetico a livello alveolare (da cui dipende quella arteriosa) può essere misurata dai monitor dotati di apposito modulo per la lettura dei gas. Tale informazione è continuamente disponibile, l'anestesista può quindi avere un buon controllo sulla somministrazione del farmaco e sulla profondità del piano d'anestesia. Nel caso della TIVA un simile controllo è possibile solamente con la TCI, l'anestesista, infatti, può impostare e modificare in qualsiasi momento la concentrazione target dell'anestetico per ottenere l'effetto desiderato, in maniera simile a quanto si fa con il settaggio del vaporizzatore. In entrambi i casi si possono ottenere rapide variazioni della profondità d'anestesia, tuttavia, nel caso dell'anestesia inalatoria esse sono influenzate dall'attività respiratoria, dal tipo di circuito e dai flussi di gas utilizzati, risultando tendenzialmente più lente e meno prevedibili rispetto alla TCI.

Per quanto concerne i costi, questi dipendono da molti fattori, come il tipo di farmaci EV o agenti volatili utilizzati, il tipo di tecnica d'infusione, il tipo di paziente, la durata dell'intervento e altri. Risulta difficile dunque un confronto tra TIVA e anestesia inalatoria in tal senso. E' stato calcolato, per esempio, che i costi approssimativi per il mantenimento di un'anestesia di 1 ora con sevoflorano o con propofol, sono maggiori per la TIVA nei pazienti adulti, ma minori nei bambini (Lerman and Jöhr, 2009).

TARGET

CONTROLLED

INFUSION

3.1 TCI, IL CONCETTO E LA STORIA

La *target controller infusion* o TCI è una tecnica d'infusione di farmaci EV nella quale l'anestesista, anziché impostare una velocità d'infusione, seleziona un *target*, ovvero una concentrazione desiderata di farmaco nel sangue o nel sito effetore. Un computer-software, esterno o incorporato nella pompa a siringa, sulla base di algoritmi matematici e modelli PK controlla la quantità di farmaco rilasciata in modo da garantire un rapido raggiungimento del target ed il suo mantenimento nel tempo. La concentrazione target può essere variata dall'anestesista secondo le esigenze in qualunque momento.

I primi sistemi sperimentali di infusione assistita da computer furono descritti con terminologie differenti: CATIA (*computer-assisted total intravenous anaesthesia*) (Schüttler et al., 1988), CACI (*computer-assisted continuous infusion*) (Jacobs, 1988), TIAC (*titration of intravenous agents by computer*) (Tackley et al., 1989), CCIP (*computer-controlled infusion pump*) (Shafer et al., 1990). Dal 1997, per semplificare e standardizzare la terminologia venne proposta una nomenclatura comune ed fu raggiunto un consenso sull'uso dell'acronimo TCI (Glass et al., 1997). Tra la metà degli anni ottanta e l'inizio degli anni novanta vari gruppi di ricerca svilupparono degli algoritmi per l'infusione controllata a target (Alvis et al., 1985; Shafer et al., 1988; Jacobs, 1990; Maitre and Shafer, 1990; Bailey and Shafer, 1991; Shafer and Gregg, 1992). Gli algoritmi semplificati pubblicati da Bailey e Shafer (1991) e successivamente estesi da Shafer e Gregg (1992) per l'inclusione del sito effetore, divennero le basi di tutti i futuri sistemi TCI. L'uso di un sistema TCI prototipo per la somministrazione di propofol (e alfentanil) nell'uomo venne per la prima volta descritto da Schüttler e colleghi (1988), che dimostrano come la TCI fosse capace di garantire induzioni tranquille senza alterazioni emodinamiche significative, buona maneggevolezza intraoperatoria, e risvegli rapidi. Due anni più tardi, presso l'Università di Glasgow venne sviluppato un sistema per l'infusione di propofol a target plasmatico controllato (White and Kenny, 1990). Inizialmente su di un computer esterno connesso ad una pompa, il software di controllo venne successivamente incorporato nella pompa a siringa stessa e, insieme ad un modello PK selezionato, divenne la base del primo sistema TCI disponibile in commercio per l'infusione di propofol nell'uomo, il Diprifusor™ (sviluppato dall'ICI Pharmaceuticals, ora AstraZeneca, e approvato in Europa nel 1996). Tale sistema era dotato di un secondo microprocessore indipendente per il controllo dei calcoli al fine di garantire un sufficiente livello di sicurezza, e venne testato mediante trials clinici su più di 400 pazienti (tra i 16 e

gli 83 anni d'età, di peso compreso tra 36 e 123 kg, e ASA *physical status* da I a III). Questi studi documentarono la sicurezza e l'efficacia della tecnica e servirono a determinare dei target adeguati di riferimento per l'induzione ed il mantenimento dell'anestesia con propofol (Glen, 1998). Il Diprifusor™ fu il *device* pionieristico che introdusse e diffuse la TCI nella pratica clinica di routine in molti paesi del mondo, tuttavia, una volta che il propofol generico divenne disponibile (il sistema Diprifusor™ infatti consentiva la sola somministrazione del propofol brandizzato Diprivan®), dovette lasciare spazio ad altri sistemi TCI (detti 'aperti') in grado di somministrare farmaci diversi, con controllo del target plasmatico, o di quello effettoriale. A partire dal 2004, una seconda generazione di pompe infusionali associate a sistemi TCI aperti iniziò a venire prodotta e commercializzata da diverse compagnie (Arcomed, Bionet, Braun, Carefusion, Fresenius, Terumo, Veryark) (**Tabella 3.1**). E' stato calcolato che da allora in circa dieci anni più di 36.000 unità sono state vendute, in almeno 96 paesi nei quali questi sistemi sono approvati e disponibili (**Figura 3.1**).

Details of available pharmacokinetic models for TCI						
Manufacturer	Pump name/s	Drug name	Population	PK model	Plasma mode	Effect-site mode
Arcomed	Volumed μ VP7000	Propofol	Adult	Marsh et al., Schnider et al.	✓	✓
		Remifentanil	Adult	Minto et al.	✓	✓
Braun	Infusomat Space	Fentanyl	Adult	Shafer et al.	✓	✓
		Propofol	Adult	Marsh et al., Schnider et al.	✓	✓
Bionet	Perfusor Space TCI pump	Remifentanil	Adult	Minto et al.	✓	✓
		Propofol	Adult	Schnider et al.	✓	✓
		Aquafof	Adult	Jung et al.	✓	✓
		Remifentanil	Adult	Minto et al.	✓	✓
		Alfentanil	Adult	Maitre et al.	✓	✓
CareFusion	Alaris PK	Sufentanil	Adult	Gepts et al.	✓	✓
		Propofol	Adult	Marsh et al., Schnider et al.	✓	✓
		Propofol	Pediatric	Kataria et al., Paedfusor	✓	✓
		Remifentanil	Adult	Minto et al.	✓	✓
		Alfentanil	Adult	Maitre et al.	✓	✓
Fresenius Kabi	Base Primea	Sufentanil	Adult	Gepts et al.	✓	✓
		Propofol	Adult	Marsh et al., Schnider et al.	✓	✓
		Remifentanil	Adult	Minto et al.	✓	✓
		Sufentanil	Adult	Gepts et al.	✓	✓
		Alfentanil	Adult	Scott and Stanski	✓	✓
Guangxi Veryark Technology	Concert I	Propofol	Adult	Marsh et al., Schnider et al.	✓	✓
		Remifentanil	Adult	Minto et al.	✓	✓
		Sufentanil	Adult	Gepts et al.	✓	✓
		Alfentanil	Adult	Maitre et al.	✓	✓
		Fentanyl	Adult	Shafer et al.	✓	✓
	Concert-CL	Midazolam	Adult	Greenblatt et al.	✓	✓

Tabella 3.1 Riassuntivo dei dettagli relativi ai sistemi TCI aperti 'di seconda generazione' commercializzati a partire dal 2004. Per ciascuna pompa infusionale sono riportati i farmaci infondibili, i modelli PK, la popolazione per la quale sono stati ricavati, e le modalità di controllo del target disponibili (Absalom et al., 2016).

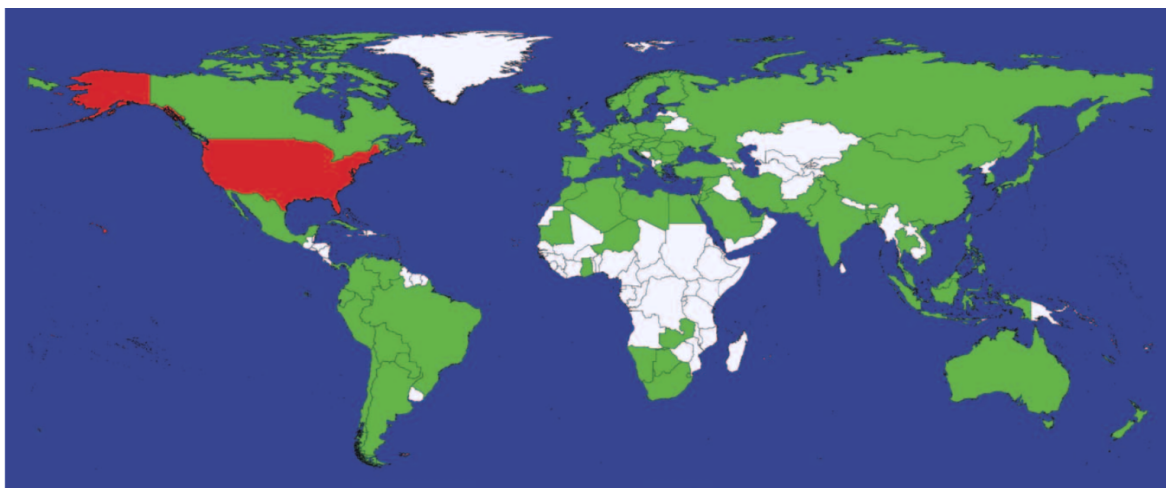


Figura 3.1 Disponibilità di *device* per la TCI nell'uomo nel mondo. In verde, bianco e rosso sono rappresentati i paesi per i quali rispettivamente esiste/è incerta/non esiste la disponibilità ed una approvazione regolamentare (Absalom et al., 2016).

Oggigiorno in medicina umana, sistemi TCI approvati vengono routinariamente utilizzati per la somministrazione EV di propofol e/o oppioidi in milioni di pazienti ogni anno (si stima più di 2 milioni per anno solo in Europa) (Absalom et al., 2016). Essi vengono utilizzati sia per l'induzione e il mantenimento dell'anestesia generale, durante procedure chirurgiche minori e non, sia per sedazioni (ad esempio durante procedure di diagnostica per immagini, endoscopie, procedure chirurgiche in anestesia loco-regionale), sia per il controllo e la gestione del dolore intra- e post-operatorio.

Oltre a questi, esistono anche sistemi TCI non approvati che, offrendo una maggiore versatilità, sono stati e vengono tuttora ampiamente utilizzati per ricerca, contando ad oggi almeno 600 studi *peer-reviewed* pubblicati (Absalom et al., 2016). La TCI, ad esempio, bene si presta a studi PK, allo studio delle interazioni PK/PD tra farmaci o, più in generale, a studi clinici che richiedono la sedazione o anestesia di pazienti, poichè consente di ottenere più facilmente condizioni di stabilità.

Da quando è stata lanciata commercialmente, nel 1996 al *World Congress of Anaesthesiologists* di Sydney in Australia, a oggi, i dati e le informazioni disponibili (provenienti dalla letteratura medica pubblicata, dai produttori di TCI *devices*, dai siti Web degli organismi governativi regolatori) suggeriscono che la TCI sia sicura almeno quanto l'infusione convenzionale a controllo manuale, ed è stato calcolato che il rischio di gravi eventi avversi correlati all'utilizzo di tale tecnica sia inferiore a 1 su 7milioni (con un margine

di confidenza del 95%) (Schnider et al., 2016).

La TCI non è (ancora) un sistema per ottenere anestesi automatizzate interamente controllate da un computer. Nell'utilizzarla, l'anestesista modifica il target (la concentrazione plasmatica o effettoriale del farmaco voluta per un particolare effetto) adeguandolo alla risposta clinica del paziente. Il controllo quindi resta nelle mani dell'operatore, che dovrà comunque gestire l'infusione basandosi sui segni clinici e sul monitoraggio del paziente, similmente a quanto avviene con l'anestesia inalatoria e l'uso del vaporizzatore. I sistemi TCI mostrano nel corso del tempo l'andamento, sia delle concentrazioni target selezionate, sia delle concentrazioni plasmatiche e/o effettoriali predette sulla base del modello PK, informazioni queste molto utili all'anestesista per la conduzione in sicurezza dell'infusione.

TCI in medicina veterinaria. In medicina veterinaria lo sviluppo della TCI è solamente agli inizi. Allo stato attuale sono stati pubblicati in letteratura solamente tre lavori di validazione di modelli PK per la TCI, due per l'infusione di propofol in cani adulti sani (Beths et al., 2001; Lee et al., 2012) ed uno per la somministrazione di propofol in gatti adulti sani (Cattai et al., 2016). Nel loro studio Beths e colleghi (2001) hanno valutato le performance di un sistema TCI in 16 cani adulti (6 Greyhounds e 10 *mixed-breed*, di media-grossa taglia ed età compresa tra i 2.5 e i 12 anni) premedicati con acepromazina (0.03-0.05 mg/kg) e metadone (0.1 mg/kg) o petidina (2 mg/kg), ottenendo dei risultati entro i limiti considerati accettabili per la validazione. Il sistema si basa su un set di parametri PK ricavati da un precedente studio farmacocinetico su 3 cani beagle (Cockshott et al., 1992), che sono stati in parte modificati empiricamente per migliorare la performance predittiva del modello. Nello stesso studio, vengono individuati un target d'induzione ottimale di 3 µg/ml, e dei targets di mantenimento compresi tra 2,5 µg/ml e 4,7 µg/ml di propofol (anestesia per chirurgia dentale di routine). A detta degli autori la tecnica si è dimostrata semplice da utilizzare, e le anestesi ottenute, stabili e di qualità (prive di significativi effetti cardiovascolari e respiratori indesiderati). In uno studio successivo, su cani premedicati con acepromazina e morfina ed anestetizzati con propofol utilizzando lo stesso sistema TCI, è stato suggerito come target ottimale d'induzione 3,5 µg/ml (Musk et al., 2005). Altri studi sul cane, successivi alla sua pubblicazione, vedono l'utilizzo in ambito clinico del modello PK di Beths et al. (Joubert et al., 2004; Ribeiro et al., 2008; Brás et al., 2009; Ribeiro et al., 2012; Beier et al., 2015). In uno studio retrospettivo su quattro cani sottoposti a

neurochirurgia e anestetizzati con TCI (computer-software Stelpump) di propofol, Joubert et al. (2004) riportano una buona qualità dell'anestesia in virtù della stabilità emodinamica osservata, della sicurezza e della semplicità di utilizzo della tecnica. Anche Ribeiro et al. (2012), in uno studio clinico di valutazione del *cerebral state index* (CSI) su cani anestetizzati con TCI (computer-software Rugloop II) di propofol, riportano una notevole stabilità emodinamica anche ai piani d'anestesia più profondi (perdita del riflesso corneale), con un decremento massimo della pressione arteriosa media rispetto al valore basale del 24%. Brás et al. (2009), utilizzando il CSI per studiare il *time to peak effect* del propofol somministrato nel cane, hanno calcolato una costante di equilibrio tra plasma e sito effettore (K_{e0}) per il modello Beths et al.

Lee et al. (2012) nel loro studio valutano le performance predittive di un sistema TCI che incorpora due modelli PKPD (set di parametri PK + K_{e0}) sviluppati dallo stesso gruppo di ricerca coreano (Lee et al., 2009), uno per la somministrazione di propofol nella formulazione classica ed uno per la somministrazione di una nuova formulazione microemulsionata (Aquafol™, Daewon Pharmaceutical Co., Ltd., Seoil, Korea), ad oggi però non commercializzata. Sia per lo studio di creazione del modello, che per quello di validazione è stata utilizzata una popolazione costituita da cani beagle non premedicati di circa un anno d'età e peso simile. Le performance predittive del modello PK si sono dimostrate accettabili clinicamente. Anche *bias* ed accuratezza globali delle predizioni PD sono risultate nei range classici di validazione, sebbene una definizione di accettabilità clinica per questi parametri al momento non esiste.

Nel 2016 il nostro gruppo ha pubblicato uno studio di validazione di un modello PK per la TCI di propofol in gatti adulti sani e premedicati (**Figura 3.2**). Un primo set di parametri PK è stato ricavato da uno studio farmacocinetico in bolo su sette gatti. Le performance di questo set di parametri sono state successivamente valutate (mediante il confronto tra le CP predette e quelle misurate) su nove gatti anestetizzati con TCI di propofol e sottoposti a sterilizzazione chirurgica. Delle modifiche empiriche basate su simulazioni al computer sono state condotte per cercare di ottimizzare il modello PK, che è stato poi testato su altri sei gatti sottoposti a chirurgia. L'accuratezza del modello PK finale è risultata entro i range di accettabilità per l'utilizzo clinico, e, né depressione respiratoria né cardiovascolare sono state osservate nei gatti di questo studio sottoposti a TCI di propofol (Cattai et al., 2016).

Un sondaggio in Italia del 2010 ha analizzato le allora attuali pratiche di medici veterinari iscritti a una società di anesthesiologia, circa l'utilizzo di propofol e oppioidi durante le

anestesi e per il trattamento del dolore acuto nei piccoli animali. Su 168 rispondenti al sondaggio circa l'80% faceva uso di pompe infusionali a siringa. Di questi, solo il 5% circa utilizzava sistemi TCI, tuttavia, circa la metà aveva esperienza di utilizzo di modelli PK come aiuto per la gestione delle infusioni, e, la maggior parte dei rispondenti riteneva che l'utilizzo di pompe in modalità TCI potesse migliorare la pratica e la cura del paziente.

In particolare, il 31% (sul totale dei rispondenti) utilizza la CRI, il 24,2% uno schema d'infusione manuale BET (*Bolus-Elimination-Transfer*), il 18,8% un sistema TCI manuale, il 4,8% un sistema TCI. La maggior parte dei rispondenti inoltre riteneva che l'uso di pompe con capacità TCI potesse migliorare la pratica clinica e la cura del paziente (Novello and Carobbi, 2010).

La TCI è ancora un campo in via di sviluppo. Il progresso delle tecnologie rende le apparecchiature per infusione sempre più sofisticate e affidabili e i sistemi TCI più moderni iniziano a incorporare, oltre ai parametri PK, anche informazioni di PD. L'industria farmaceutica, inoltre, sviluppa nuovi farmaci o perfeziona quelli esistenti per avvicinarsi sempre più al farmaco ideale per la TIVA. In ambito veterinario ad oggi esistono ancora pochi mezzi e pochi contenuti, tuttavia, i potenziali benefici dell'uso di questa tecnica, ed i risultati promettenti dei primi studi sugli animali, dovrebbero essere di incoraggiamento per provare a seguire la strada già tracciata dall'anestesiologia in medicina umana.



Figura 3.2 Immagine di copertina di *Veterinary Record* (Maggio 2016), tratta dallo studio di Cattai et al. sull'infusione assistita da computer nel gatto.

3.2 TCI, FUNZIONAMENTO E CONFRONTO CON L'INFUSIONE MANUALE

L'obiettivo di ogni forma di somministrazione di un farmaco è quello di raggiungere e mantenere nel corso del tempo l'effetto terapeutico desiderato evitandone al contempo gli effetti indesiderati. Tipicamente, la scelta del dosaggio per la somministrazione EV di farmaci anestetici/analgesici viene fatta considerando unicamente il peso del paziente. Altre caratteristiche come l'età, la taglia, il sesso, la condizione corporea o la concomitante somministrazione di altri farmaci non vengono solitamente considerate, a causa della complessità matematica delle relazioni tra queste covariabili e la dose. I farmaci somministrati nell'organismo, inoltre, tendono ad accumularsi nei tessuti durante le infusioni. Questo accumulo se non considerato, andrà certamente a confondere la relazione tra velocità d'infusione selezionata dall'anestesista e la concentrazione del farmaco nel sangue e nel sito effetore. Attraverso degli algoritmi matematici e adeguati modelli farmacocinetici un computer-software può prevedere con un certo grado di accuratezza la distribuzione e l'accumulo del farmaco nell'organismo durante l'infusione, e calcolare di conseguenza la velocità d'infusione ottimale per mantenere stabili le concentrazioni plasmatiche/effettoriali. Inoltre, i sistemi TCI sono in grado di considerare per il calcolo della velocità d'infusione più covariabili.

I sistemi d'infusione assistita da computer attualmente utilizzati in ambito clinico si definiscono "*open-loop*", poiché il software di controllo della pompa non riceve alcun feedback dal paziente. Si parla invece di sistemi a circuito chiuso ("*closed-loop*") quando il software controlla l'infusione del farmaco anche sulla base di informazioni di ritorno provenienti dal paziente, che in un certo senso quindi "comunica" con il sistema TCI. Al momento tali sistemi automatizzati di infusione rimangono nell'ambito della ricerca, tuttavia, in anni recenti gli studi che ne riportano un utilizzo efficace nell'uomo sono sempre più numerosi (Liu and Rinehart, 2016; Zaouter et al., 2017).

Sistemi open-loop. Sono costituiti essenzialmente da una pompa a siringa connessa con un computer-software sul quale sono caricati uno o più modelli farmacocinetici (set di parametri o equazioni), utilizzati dal programma per calcolare costantemente in tempo reale la velocità d'infusione necessaria per raggiungere e mantenere un determinato target. Il target è la concentrazione desiderata del farmaco nel sangue o nel sito effetore e può essere variato in qualsiasi momento dall'anestesista. Il software, che può essere

incorporato nella pompa infusionale o trovarsi in hardware esterno collegato con essa, funge da interfaccia utente e funziona sulla base di algoritmi matematici per il controllo delle operazioni della pompa. Esso ricalcola frequentemente (pochi secondi d'intervallo) la dose appropriata da somministrare sulla base delle simulazioni farmacocinetiche dell'andamento temporale delle concentrazioni del farmaco nel paziente, aggiornando di conseguenza la velocità d'infusione. I modelli PK, derivanti da studi clinico-farmacologici, sono specifici per i farmaci che si vogliono infondere e per la specie di destinazione, inoltre, sono potenzialmente in grado di considerare diverse covariabili oltre al peso.

Anziché impostare una velocità d'infusione sulla base dell'esperienza e delle raccomandazioni presenti in letteratura, quindi, l'anestesista designa una concentrazione target ed il sistema TCI fa il resto. Il target iniziale va scelto sulla base della conoscenza delle finestre terapeutiche dei diversi farmaci nel contesto dello specifico paziente, della procedura cui sarà sottoposto e dell'eventuale co-somministrazione di altri farmaci. Le successive correzioni del target verranno invece apportate considerando la risposta clinica del paziente e le concentrazioni predette del farmaco nel tempo (**Figura 3.3**).

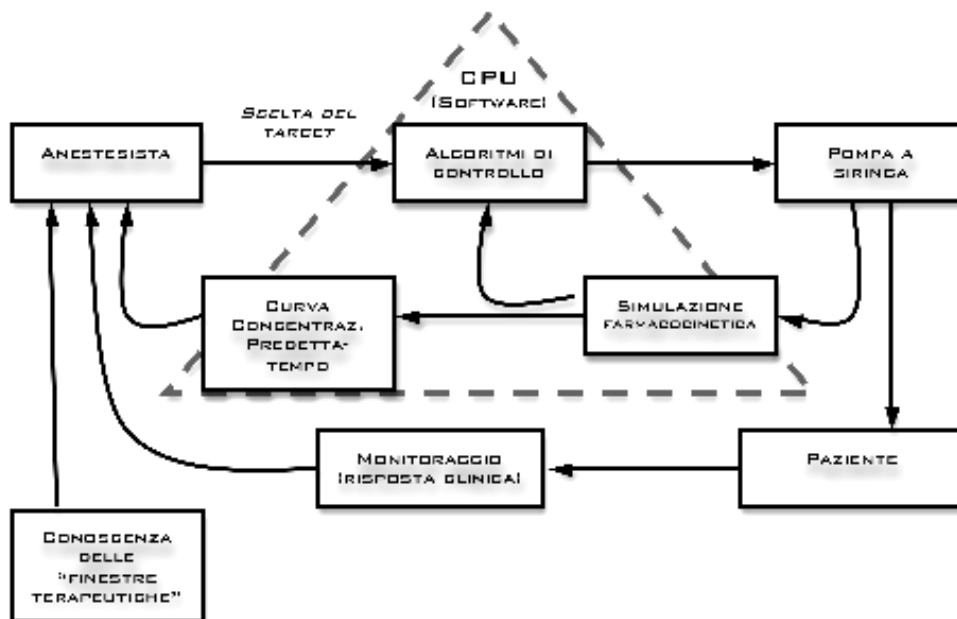


Figura 3.3 Rappresentazione schematica di un sistema TCI open-loop. La pompa comunica continuamente al software la quantità di farmaco somministrata al paziente cosicché la simulazione PK sulla concentrazione corrente può essere aggiornata. Il software traduce le predizioni ricavate dal modello PK in istruzioni per il controllo automatico dell'infusione (per i dettagli vedi il testo).

In **Figura 3.4** è possibile osservare un esempio di funzionamento di un sistema TCI. Una C_p target iniziale viene selezionata, il software comanda quindi alla pompa di iniziare l'infusione (più o meno rapida a seconda del limite massimo di velocità preimpostato) al fine di raggiungere tale concentrazione. Successivamente, il software continuerà ad amministrare l'infusione correggendone costantemente la velocità per mantenere costante la C_p scelta. Se gli effetti del farmaco infuso risultano essere inadeguati, in qualsiasi momento un nuovo target potrà essere impostato. Se la nuova C_p target è maggiore di quella corrente il sistema comanderà una infusione rapida per raggiungere il nuovo target, se invece viene impostato un target inferiore a quello corrente, il sistema arresterà l'infusione fino a che la C_p predetta non sarà scesa fino al nuovo target.

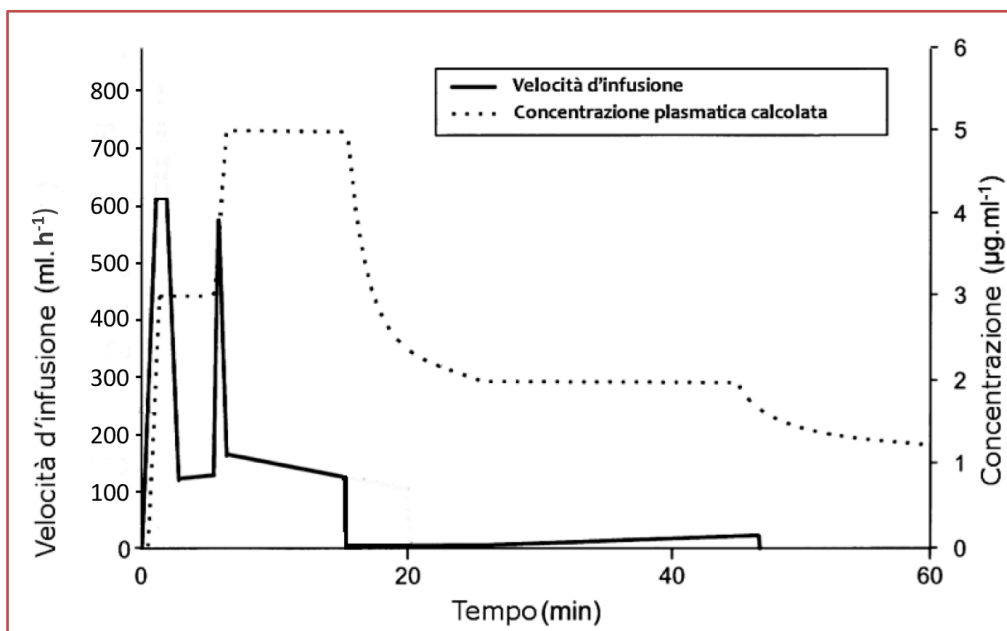


Figura 3.4 Grafico della velocità d'infusione e della concentrazione plasmatica calcolata (o predetta) di un farmaco somministrato mediante TCI. La C_p target iniziale scelta è $3 \mu\text{g/ml}$, successivamente portata a $5 \mu\text{g/ml}$, poi a $2 \mu\text{g/ml}$, per poi terminare l'infusione dopo circa 45 minuti.

Sistemi closed-loop. Tali sistemi di somministrazione automatizzata si caratterizzano per l'utilizzo da parte del software TCI di input di ritorno provenienti dai sistemi di monitoraggio del paziente, ad esempio: parametri elettroencefalografici come il CSI o l'indice bispettrale, parametri emodinamici come la pressione sanguigna e la frequenza cardiaca, potenziali evocati uditivi. Tali segnali di feedback sono correlati all'effetto del farmaco somministrato e rappresentano quindi una 'misura' in tempo reale degli effetti dell'infusione, che il software regola di conseguenza variando velocità d'infusione e

concentrazioni target. In un certo senso quindi il sistema è a circuito chiuso e bypassa l'anestesista, il quale tuttavia può intervenire in qualsiasi momento per modificare il target. Sebbene la misurazione oggettiva della profondità dell'anestesia sia già una realtà in medicina umana, il ruolo dell'anestesista rimane ancora difficilmente sostituibile, poiché, egli è in grado di interpretare nell'insieme molti più segnali provenienti dal monitoraggio del paziente (anche sulla base dei trends) ed inoltre, ha la possibilità di anticipare gli eventi (e.g. stimoli dolorifici).

Vantaggi della tecnica TCI. La tecnica d'infusione TCI si avvale di modelli PK, e dello storico di somministrazione del farmaco nel singolo paziente, per il calcolo delle velocità d'infusione necessarie a raggiungere e mantenere le desiderate concentrazioni di farmaco nell'organismo. Una differenza importante rispetto alle infusioni convenzionali è che la velocità d'infusione viene ridotta ad intervalli regolari, poiché considera l'*uptake* del farmaco nei compartimenti saturabili. Un'altra importante differenza, oltre all'abilità di mantenere stabili le concentrazioni nel tempo, riguarda la capacità di variazione delle stesse quando richiesto. Per modificare nel modo più rapido possibile la Cp ed effettoriale fino all'effetto voluto, evitando così ritardi indesiderabili tra la nuova regolazione e la risposta del paziente, l'ideale è somministrare il farmaco mediante infusioni rapide calcolate oppure, interrompere l'infusione per un preciso intervallo di tempo (al fine di aumentarne o diminuirne la concentrazione rispettivamente). Questo è difficilmente realizzabile in un contesto d'infusione convenzionale, mentre è possibile con la TCI grazie alle previsioni del modello PK ed ai calcoli costanti ed in tempo-reale da parte del computer-software.

Per quanto concerne la somministrazione di farmaci mediante TCI, è possibile elencare una serie di vantaggi pratici generali:

- Raggiungimento rapido di una concentrazione terapeutica e successivo mantenimento costante della stessa.
- Buon controllo e prevedibilità degli effetti PD.
- Rapido ottenimento di variazioni commisurate della Cp del farmaco attraverso la modifica del target (buona 'titolabilità').
- Assenza di picchi della concentrazione plasmatica, quindi dei possibili effetti avversi a loro associati.

- Considerazione della cinetica del farmaco nella specie paziente ed anche di alcune caratteristiche intraspecifiche, come peso, età, sesso, ecc. (covariabili).
- Nessuna necessità di calcolo della velocità d'infusione da parte dell'anestesista.
- Possibilità di variare il tempo necessario per il raggiungimento dell'effetto desiderato/target (e.g. per ottenere un'induzione lenta in un paziente debilitato).
- Visualizzazione della Cp predetta, attuale e futura. Tale informazione, unitamente al monitoraggio clinico, consente di valutare in anticipo se saranno necessari futuri cambiamenti del target (una volta stoppata l'infusione, il sistema continua a predire la Cp del farmaco).
- Visualizzazione della concentrazione stimata nel sito effetore. Tale informazione può essere di grande aiuto per la scelta degli aggiustamenti del target.
- Stima del tempo necessario al raggiungimento di una Cp di farmaco inferiore a quella attuale (*decrement time*, vedi capitolo successivo).
- Recupero automatico della Cp target in caso di temporanea interruzione dell'infusione, per e.g. per cambio di siringa (il sistema compensa automaticamente il periodo di mancata infusione).

In uno studio che metteva a confronto l'anestesia con propofol mediante infusione manuale e quella assistita da computer, negli'anni in cui quest'ultima tecnica stava nascendo, la maggior parte degli anestesisti coinvolti esprimeva la propria preferenza per la TCI, descrivendola anche come facile da utilizzare dopo un limitato periodo di training (Russell et al., 1995). Sebbene non vi siano ancora evidenze scientifiche sufficienti per considerare la TCI significativamente superiore all'infusione manuale in termini di qualità e sicurezza anestetica (Leslie et al., 2008), è evidente la crescente popolarità di questa tecnica, sia in ambito sperimentale che della pratica clinica (Absalom et al., 2016). Uno dei principali vantaggi della TCI di propofol rispetto alla somministrazione manuale è il miglior controllo della profondità dell'anestesia o della sedazione (van den Nieuwenhuyzen et al., 2000; Green and Krauss, 2016; De Vito et al., 2017), le Cp dell'anestetico, infatti, vengono mantenute vicine a quelle desiderate in base al profilo PK del farmaco. Un altro importante vantaggio è la possibilità da parte dell'anestesista di "aggiustare" il piano anestesiológico in maniera rapida, semplicemente modificando la concentrazione target desiderata (Beths et al., 2001; Egan, 2003), il tutto a beneficio della stabilità emodinamica e respiratoria del paziente. Con l'infusione manuale è estremamente difficile ottenere un raggiungimento

rapido ed il successivo mantenimento di concentrazioni costanti di anestetico nel sangue, a causa della complessità dei calcoli matematici utilizzati per cercare di descrivere il comportamento PK del farmaco nell'organismo. L'anestesista, durante l'infusione manuale, non può conoscere (se non in maniera molto approssimativa) qual è l'attuale concentrazione dell'agente anestetico nel plasma o nella biofase, ed è facile di conseguenza che i valori desiderati vengano oltrepassati (con aumento del rischio di effetti collaterali) o non raggiunti (con conseguente possibile inadeguatezza del livello d'anestesia). Inoltre, poiché la PK e la PD sono soggette a una sostanziale variabilità interindividuale e l'effetto di un farmaco richiesto può variare durante l'anestesia, è ovvia l'importanza di poterne controllare direttamente le concentrazioni nel sangue e nel sito effettore durante tutto il periodo di somministrazione. Sebbene le C_p e effettoriali calcolate/predette siano solo delle stime, i sistemi TCI mostrano all'anestesista come queste variano nel corso del tempo, fornendo quindi delle informazioni molto utili sul rapporto concentrazione-effetto. Nel caso dell'infusione manuale, invece, l'anestesista è a conoscenza solamente della velocità d'infusione e delle risposte del paziente, ed in balia delle relazioni velocità d'infusione-effetto che sono estremamente variabili nel tempo (anche adottando schemi d'infusione, poiché diversamente dai sistemi TCI non tengono continuamente conto del comportamento PK del farmaco nello specifico paziente). Un controllo "fine" del piano d'anestesia è utile soprattutto nei pazienti più "problematici" (e.g. con patologie respiratorie o cardiovascolari) in quanto una maggiore accuratezza nel controllo delle C_p del farmaco può garantire condizioni di stabilità emodinamica e respiratoria migliori, ovvero maggiore sicurezza anestetica.

Alcuni vantaggi della TCI di propofol rispetto all'infusione manuale descritti nell'uomo sono:

- Minore incidenza di movimenti da parte del paziente durante la chirurgia (Russell et al., 1995; Servin, 1998).
- Riduzione del numero di interventi da parte dell'anestesista (Newson et al., 1995; Servin, 1998).
- Minore incidenza di PONV (Suttner et al., 1999).
- Minore incidenza di apnea (Struys et al., 1997).
- Maggiore stabilità cardiovascolare durante l'anestesia (Chaudhri et al., 1992).
- Riduzione del tempo di rilascio dalla sala ricoveri (Newson et al., 1995).

3.3 TCI, CONSIDERAZIONI FARMACOLOGICHE

Farmacocinetica e farmacodinamica applicata ai sistemi TCI. Nella pratica anestetica la dose viene tipicamente corretta per il peso e somministrata in mg o μg di farmaco per kg di peso del paziente in caso di boli, mg o μg per kg per minuto in caso d'infusione. I sistemi TCI, come visto, utilizzano un approccio differente. Anziché impostare una dose o una velocità d'infusione, l'anestesista imposta una concentrazione target per raggiungere una determinata concentrazione di farmaco predetta in uno specifico compartimento (solitamente il sangue) o tessuto (solitamente il SNC) dell'organismo. Questo si rivela essere molto intuitivo, perché molto simile alla modalità di somministrazione degli agenti anestetici inalatori, che vengono dosati sulla base delle concentrazioni di fine espirazione (Struys et al., 2016). Poiché le concentrazioni nei tessuti non si possono misurare in tempo reale per i farmaci anestetici e analgesici EV, i software TCI ricorrono a modelli PK (solitamente di tipo tri-compartimentale) o PKPD (modelli che considerano anche il ritardo tra la C_p e l'effetto del farmaco, aggiungendo un quarto compartimento detto effettore) per stimarle, ed utilizzano queste informazioni per calcolare le velocità d'infusione necessarie per raggiungere e mantenere specifiche C_p o effettoriali predette e selezionate dall'anestesista (vedi capitolo 2.2). Le velocità d'infusione devono compensare non solo l'eliminazione del farmaco dall'organismo ma anche tenere conto di come questo si distribuisce nel tempo nei vari tessuti. Se le caratteristiche di distribuzione non vengono adeguatamente prese in considerazione le concentrazioni nel sangue possono rapidamente scendere al di sotto del livello terapeutico oppure aumentare eccessivamente per effetto dell'accumulo ed esitare in effetti collaterali indesiderati.

Un'importante aspetto è quello della variabilità farmacocinetica interindividuale, per cui l'applicazione di modelli PK pertinenti è di grande importanza: i parametri PK utilizzati dovrebbero riflettere nel miglior modo possibile la cinetica del farmaco nel paziente in cui viene somministrato. Poiché tali parametri spesso sono derivati da studi su popolazioni ridotte, relativamente omogenee, e di soggetti in condizioni cliniche non estreme, in alcuni pazienti le concentrazioni reali (plasmatiche o nel sito effettore) potrebbero discostarsi considerevolmente da quelle predette/calcolate dal sistema TCI (Coetzee et al., 1995; van den Nieuwenhuyzen et al., 2000; Bienert et al., 2012). Tuttavia, la variabilità biologica, che impedisce di predire senza errore le reali concentrazioni plasmatiche/effettoriali dei farmaci, esiste a prescindere dal metodo di somministrazione del farmaco. Diversamente

dalle infusioni convenzionali la tecnica TCI permette di mantenere molto più contenuta e costante nel tempo la differenza tra concentrazioni volute e concentrazioni reali. Per esempio, se la C_p reale del farmaco è superiore del 10% rispetto a quella predetta dal sistema TCI dopo 20 minuti d'infusione, dopo due ore d'infusione la differenza sarà molto probabilmente sempre di circa il 10% (Schnider et al., 2016). Ad oggi, buona parte dei modelli PK incorporati nei *device* per la TCI nell'uomo includono delle covariabili correlate con caratteristiche del paziente quali il peso, l'età o il sesso, che permettono di personalizzare maggiormente le infusioni dei farmaci, aumentando le performance predittive del modello quando applicato su popolazioni di pazienti eterogenee per caratteristiche. La variabilità PK è maggiore tra gli ammalati rispetto ai pazienti sani. Molte condizioni patologiche possono coinvolgere diverse funzioni organiche e il modo in cui i farmaci si distribuiscono (e.g. patologie cardiovascolari), vengono metabolizzati (e.g. epatopatie) ed escreti (e.g. nefropatie) (Gepts, 1998; Bienert et al., 2012).

Attraverso la conoscenza delle relazioni esistenti tra concentrazione, effetti voluti e avversi, è possibile identificare per i farmaci una finestra terapeutica entro la quale la maggior parte dei pazienti incontrino l'effetto desiderato. Le finestre terapeutiche sono importanti per la scelta delle concentrazioni target. In medicina umana la farmacodinamica intraoperatoria di diversi oppioidi e ipnosedativi è stata ampiamente studiata, ad esempio, da studi sull'alfentanil sono state descritte le curve C_p -effetto per l'intubazione, l'incisione della cute, la sutura della cute e la respirazione spontanea. Un'altra considerazione importante è che, poiché agenti ipnosedativi e analgesici influenzano in modo reciproco la relazione concentrazione-effetto dell'altro, le interazioni tra farmaci frequentemente utilizzati in combinazione dovrebbero essere studiate e conosciute (Vuyk et al., 1995; van den Nieuwenhuyzen et al., 2000). Un'altra causa di variabilità interindividuale sono quindi le differenze di effetto prodotte da una stessa concentrazione di farmaco nella biofase in individui diversi. L'ampiezza della variabilità PD è difficile da determinare ma può essere significativa (Gepts, 1998). Anche se, grazie a modelli PK basati su farmacocinetiche di popolazione e ottimizzati mediante lo studio di covariabili, è possibile ridurre l'inaccuratezza di un sistema TCI associata alla variabilità interindividuale, questa sarà sempre presente per un certo grado. Rimane fondamentale quindi, da parte dell'anestesista, adattare l'infusione alle caratteristiche individuali di ciascun paziente, osservandone gli effetti clinici e modificando il target di conseguenza al fine di ottenere e mantenere l'effetto desiderato.

Il concetto di context-sensitive half time e di decrement time. Il concetto di *context-sensitive half time* (CSHT) è stato per la prima volta introdotto nel 1992 da Hughes et al., ed è il tempo necessario affinché la Cp di un farmaco, si riduca del 50% dopo un determinato periodo di infusione (il contesto). Al termine di una breve infusione di propofol, per esempio, descritta da un modello PK tri-compartimentale, nessuno dei compartimenti periferici avrà raggiunto l'equilibrio con il compartimento centrale, e la Cp del farmaco precipiterà per effetto dei fenomeni di distribuzione ed eliminazione. Al contrario, dopo un'infusione molto lunga, il decremento della Cp sarà rallentato dai fenomeni di redistribuzione del farmaco dai compartimenti periferici a quello centrale. Il CSHT fornisce una comprensione migliore del declino della concentrazione di un farmaco nel compartimento centrale rispetto all'emivita di eliminazione (Minto and Schnider, 2008). Non si esprime con un valore fisso, ma con una curva, del tempo di dimezzamento in funzione della durata d'infusione del farmaco. Ciascun farmaco presenta una caratteristica curva del CSHT, tra gli agenti sedativi/anestetici EV ad esempio, propofol, etomidato e ketamina hanno nell'uomo un CSHT relativamente breve, mentre, quello di tiopentone e midazolam, aumenta rapidamente con l'aumentare della durata d'infusione rendendoli di fatto inadeguati per le infusioni prolungate (Gepts, 1998).

Il mantenimento dell'anestesia EV in un paziente prevede una certa concentrazione di anestetico nel sangue (e nel sito effetto), mentre il risveglio si ha ad una concentrazione più bassa, sebbene una certa quantità di farmaco sia ancora presente nell'organismo. Il tempo necessario per passare dalla concentrazione di mantenimento a quella di risveglio dipende da quanto "distano" l'una dall'altra, da quanto rapidamente il farmaco viene eliminato, ma anche dalla quantità che si è accumulata nell'organismo e dai fenomeni di redistribuzione, che dipendono dalle caratteristiche del farmaco e dalla durata dell'infusione. Dal punto di vista clinico, il CSHT fornisce una stima del tempo necessario per il risveglio del paziente solamente quando la concentrazione di mantenimento è il doppio di quella prevista per il risveglio. Un altro parametro è molto più utile in tal senso, il *decrement time*, ovvero il tempo necessario affinché una determinata concentrazione di farmaco si riduca di una percentuale qualsiasi. Esso è reso disponibile grazie a programmi di simulazione e può risultare utile non solo per la scelta di un farmaco piuttosto che un altro, ma anche per la scelta dei target di infusione. La maggior parte dei software per la TCI fornisce all'anestesista il *decrement time*, che in questo caso rappresenta il tempo stimato necessario al raggiungimento di una precisa Cp scelta dall'anestesista (e.g. Cp alla

quale si prevede il risveglio del paziente) qualora l'infusione venisse interrotta in quel momento. Tuttavia, non va dimenticato che la Cp di anestetico al risveglio è soggetta a variabilità biologica ed influenzata da altri fattori come l'effetto di altri farmaci somministrati al paziente.

Sistemi TCI che hanno come target il sito effettore. E' la concentrazione nella biofase a governare l'effetto di un anestetico, per questo esiste solitamente un'isteresi nell'effetto clinico quando la sua concentrazione nel sangue aumenta o diminuisce. Il tempo necessario affinché plasma e sito effettore (il SNC) raggiungano l'equilibrio di concentrazione dipende da fattori che influenzano la distribuzione del farmaco nella biofase (come il flusso sanguigno cerebrale e il cardiac output) e dalle proprietà farmacologiche che ne influenzano il passaggio attraverso la barriera emato-encefalica (come la liposolubilità e il grado di ionizzazione del farmaco). Il ritardo di equilibratura, quindi tra le variazioni della Cp e i rispettivi cambiamenti nell'effetto del farmaco può essere descritto matematicamente dalla Ke0 (Gepts, 1998).

I sistemi TCI, sulla base delle Ke0 incorporate (se esistenti), forniscono la concentrazione di farmaco stimata nel sito effettore, illustrando il gap tra la Cp e quella nella biofase. Tale informazione può essere d'aiuto per l'anestesista nella scelta degli eventuali aggiustamenti del target da effettuare. I sistemi TCI più recenti, inoltre, possono funzionare anche a controllo effettoriale, ovvero l'anestesista imposta come target una concentrazione nel sito effettore anziché una Cp. Tali sistemi manipolano la Cp per raggiungere il più rapidamente possibile la concentrazione di farmaco nel sito effettore definita dall'anestesista. Per raggiungere il target il sistema calcola la grandezza ottimale del picco plasmatico da indurre affinché ci sia un gradiente sufficiente a provocare un incremento rapido della concentrazione nel sito effettore senza generare un overshoot rispetto al target. Quando viene impostato un target effettoriale inferiore, invece, il sistema stoppa l'infusione fino a quando la nuova concentrazione nel sito effettore non è stata raggiunta. A questo stadio la Cp sarà inferiore rispetto a quella nel sito effettore, e quindi il sistema dovrà somministrare un piccolo bolo per evitare che la concentrazione scenda al di sotto del target (Absalom et al., 2009). Con questi sistemi quindi viene minimizzato il tempo necessario per ottenere un determinato livello di effetto. All'inizio dell'infusione o quando il target effettoriale viene aumentato però, l'overshoot nel picco plasmatico che il sistema TCI determina per raggiungere il target il più rapidamente possibile potrebbe portare a

degli effetti indesiderati. Nel caso del propofol, ad esempio, picchi eccessivi della Cp potrebbero determinare instabilità cardiovascolare, specie in pazienti emodinamicamente instabili, anziani o molto debilitati, nei quali sarebbe preferibile invece un incremento graduale e mai eccessivo della Cp per ridurre al minimo il rischio di effetti collaterali (Egan, 2003; Absalom et al., 2009; Mani and Morton, 2010).

Valutazione delle performance di un sistema TCI. Le performance di un sistema TCI dipendono principalmente dal modello PK utilizzato dal computer-software per predire le concentrazioni, poiché le pompe infusionali normalmente garantiscono la somministrazione precisa delle dosi alle velocità stabilite dal software e gli algoritmi di controllo sono standardizzati. Prima del loro utilizzo nella pratica clinica i sistemi devono essere validati, la loro valutazione può essere effettuata mediante il confronto tra le concentrazioni predette dal sistema sulla base del modello PK e quelle 'reali' misurate nel sangue. Per fare questo si effettuano degli studi clinici in cui ai pazienti sottoposti a TCI vengono prelevati una serie di campioni di sangue a vari *time points* durante e dopo l'infusione. Le concentrazioni di farmaco misurate in laboratorio nei campioni vengono poi confrontate retrospettivamente con i valori predetti dal modello in corrispondenza dei prelievi.

L'importanza dell'adeguatezza del modello PK utilizzato per la TCI in una popolazione paziente con precise caratteristiche e dell'effetto della variabilità interindividuale sono già stati discussi precedentemente. Le performance di un sistema TCI applicato su una popolazione pediatrica, ad esempio, saranno di certo migliori utilizzando una PK ricavata da studi sui bambini, piuttosto che da studi sugli adulti. Anche quando il modello PK utilizzato è ricavato da una popolazione molto simile per caratteristiche a quelle del singolo paziente, per effetto della variabilità biologica interindividuale, sarà presente comunque una certa discrepanza tra le concentrazioni stimate e quelle misurate. I modelli PK per la TCI possono ridurre l'effetto di questa variabilità, e migliorare di conseguenza le loro performance, considerando l'azione da parte di covariabili distributive.

Varvel et al. (1992) hanno definito quattro parametri utili per la valutazione delle performance di un sistema TCI. Essi si basano sull'errore predittivo percentuale (PE):

$$PE\% = (Cp \text{ misurata} - Cp \text{ predetta}) * 100 / Cp \text{ misurata}$$

Un certo grado di errore predittivo è inevitabile, poiché i modelli PK utilizzati non possono descrivere esattamente il comportamento cinetico del farmaco nel singolo paziente, considerata l'esistenza della variabilità inter ed intra-individuale (per esempio associata a variazioni emodinamiche intraoperatorie). I modelli PK utilizzati, inoltre, non sono che una mera semplificazione matematica del complesso sistema che è l'organismo paziente. L'errore predittivo mediano (MDPE), è una misura dell'inclinazione complessiva delle predizioni. Indica se il sistema TCI tende sistematicamente a sottostimare (MDPE positivo) o sovrastimare le Cp reali del farmaco (MDPE negativo). L'errore predittivo mediano assoluto (MDAPE), è un indice di accuratezza del sistema TCI, e misura quanto le Cp predette tipicamente si discostano da quelle misurate (inaccuratezza). La divergenza e il valore di oscillazione (*wobble*) misurano rispettivamente come l'accuratezza del sistema cambia nel tempo (quanto diverge) e quanto è variabile nel tempo l'errore predittivo (variabilità intrasoggettiva). Questi ultimi due indici assumono importanza soprattutto quando il sistema TCI viene utilizzato per periodi prolungati (da molte ore a giorni). L'infusione assistita da computer è riportata essere clinicamente accettabile e utilizzabile nei pazienti umani se l' MDPE del sistema TCI non è maggiore del $\pm 10-20\%$ (valori vicini allo zero sono ottimali) e l' MDAPE è nel range del 20-30%, con un variazione massima non superiore al 50-60% (Schüttler et al., 1988; Egan, 2003; Masui et al., 2010).

	MdPE (%)	MdAPE (%)	Divergence (%/h)	Wobble (%)
Eleveled (patients)	9.0[-74.8,255]	17.3[0.0,255]	0.8[-36.1, 43.2]	9.8[2.8, 31.7]
Eleveled (volunteers)	44.1[-68.6, 363]	44.6[0.15, 363]	2.9[-36.5, 59.6]	13.8[1.9, 40.4]
Marsh	85.0[-55.2, 523]	85.0[0.4, 523]	-0.2[-84.9, 61.9]	17.6[4.2, 54.4]
Schnider	27.9[-73.5, 299]	30.5[0.1, 299]	4.6[-33.0, 60.9]	12.0[1.7, 39.9]
Cortinez	46.7[-68.0, 360]	47.9[0.0, 360]	6.2[-36.8, 70.0]	13.8[0.5, 47.4]

Tabella 3.2 Performance predittive di modelli PK per la TCI di propofol nell'uomo. Valori mediani e range dei quattro indici di performance (Marsh et al., 1991; Schnider et al., 1998; Cortínez et al., 2014; Eleveled et al., 2014).

PARTE SECONDA

SVILUPPO DI UN MODELLO PK DEL PROPOFOL NEL CANE OTTIMIZZATO DA COVARIABILI



4.1 INTRODUZIONE

L'infusione assistita da computer può considerarsi la tecnica più moderna ed efficace per la somministrazione endovenosa di farmaci in ambito anestesilogico (Shafer and Egan, 2016). Tra questi, in virtù di una serie di caratteristiche favorevoli tra cui un profilo farmacocinetico adatto all'uso in infusione, il propofol rappresenta attualmente l'agente anestetico iniettabile di prima scelta e il più utilizzato sia in medicina umana che in veterinaria. L'utilizzo del propofol nel cane e nel gatto ad oggi rimane prevalentemente confinato all'induzione dell'anestesia e alla sedazione per procedure brevi, poiché per il mantenimento dell'anestesia generale si ricorre soprattutto agli agenti anestetici inalatori (Sano et al., 2018). Tuttavia, il mantenimento dell'anestesia o di stati di sedazione anche per lunghi periodi mediante infusione di propofol potrebbe risultare vantaggioso. Diversi studi nel cane hanno messo in luce i pregi della TIVA con propofol rispetto all'anestesia con anestetici gassosi (isoflurano o sevoflurano), in particolare rispetto agli effetti sulla funzione cardiovascolare (Keegan and Greene, 1993; Deryck et al. 1996; Tsai et al., 2008; Deryck et al., 2010; Iizuka et al. 2013; Caines et al., 2014). Poiché l'assorbimento degli agenti inalatori è legato alla funzionalità dell'apparato respiratorio, l'anestesia mediante infusione di propofol può risultare potenzialmente vantaggiosa nel caso di pazienti affetti da gravi patologie polmonari, di anestesi per la chirurgia toracica, di procedure sulle prime vie aeree (e.g. broncoscopie), ed in generale in tutti i casi in cui la somministrazione del gas potrebbe essere difficoltosa oppure esiste il rischio di *uptake* irregolare dell'anestetico inalatorio. Inoltre, l'infusione di propofol consente di ottenere stati di sedazione (incoscienza e miorelaxamento) per procedure diagnostiche o terapeutiche anche di lungo periodo, evitando di dover ricorrere a boli ripetuti di altri farmaci sedativi (e.g. alfa-2 agonisti) oppure a piani d'anestesia più profondi (necessari per poter intubare l'animale per la somministrazione di anestetici gassosi), e minimizzando di conseguenza il rischio di effetti cardiovascolari indesiderati (Levionnois, 2016). In aggiunta, la sedazione mediante infusione di propofol può essere associata a tecniche di anestesia locoregionale per l'esecuzione di diverse procedure chirurgiche (Campoy et al., 2012).

Quando si ricorre all'anestesia inalatoria, la concentrazione di anestetico a livello alveolare può essere misurata in modo continuo, di conseguenza, l'anestesista grazie a questa informazione può esercitare un buon controllo sulla somministrazione del farmaco e quindi sulla profondità del piano d'anestesia. Nel caso dell'anestesia totalmente endovenosa un

simile controllo è possibile solo ricorrendo alla TCI. L'anestesista, infatti, in qualsiasi momento dell'infusione può cambiare la concentrazione target dell'anestetico per ottenere l'effetto desiderato, in modo simile a quanto accade con il settaggio del vaporizzatore.

Un sistema TCI utilizza le informazioni farmacocinetiche disponibili (un modello PK) nonché le informazioni relative alla somministrazione precedente del farmaco, per calcolare le velocità d'infusione necessarie a raggiungere e mantenere le concentrazioni plasmatiche volute nel singolo paziente. Le performance della TCI dipendono principalmente dal modello PK utilizzato e si riducono quando il paziente, per caratteristiche demografiche, si discosta troppo dalla popolazione utilizzata per ricavare il modello. Questo principio, assume ancora più valenza in considerazione del fatto che nella specie canina la variabilità intraspecifica è notevole, superiore a quella esistente per l'uomo o per il gatto ad esempio. Allo stato attuale sono stati descritti in letteratura due modelli PK per la TCI di propofol nei cani, entrambi a singola variabile (il peso) (Beths et al., 2001; Lee et al., 2012). Del modello PK di Beths et al. (2001) per la TCI di propofol nel cane è possibile sottolineare la presenza di alcuni limiti: la popolazione estremamente ristretta ed omogenea da cui è stato estrapolato il set di parametri PK di partenza (3 cani beagle), la mancanza di uno studio delle covariabili nella creazione del modello, la popolazione di cani molto simili per caratteristiche su cui è stato testato per la validazione. Il modello di Lee et al. (2012) si caratterizza per una buona numerosità, sia della popolazione da cui è stato ricavato il modello, sia di quella su cui è stato testato per la validazione, tuttavia, l'eterogeneità delle due popolazioni è molto limitata. Nei due studi sono stati utilizzati rispettivamente 30 e 28 cani della stessa razza, di circa un anno d'età (10-16 e 10-14 mesi) e peso simile (8.3-13.5 e 6.6-10.5 kg). Il modello di Lee è stato ricavato e validato in animali non premedicati, condizione ideale per escludere possibili interferenze sulla cinetica del propofol da parte di altri farmaci, ma modestamente utilizzabile in ambito clinico considerando come la premedicazione sia di uso comune in anestesia veterinaria (e.g. per rendere gli animali più collaborativi alla preparazione chirurgica, per fornire analgesia, per lo sparing effect, per una migliore qualità d'induzione e risveglio).

Lo studio e l'inclusione di covariabili distributive nei modelli PK per la TCI consente di ridurre l'errore predittivo, inevitabilmente presente per effetto della variabilità interindividuale, quindi di poter utilizzare la TCI in sicurezza in finestre più ampie di pazienti

con differenti caratteristiche demografiche, fisiologiche o di condizione clinica (van den Nieuwenhuyzen et al., 2000; Egan, 2003; Schnider et al., 2016). Questo tipo di analisi è possibile utilizzando un *nonlinear mixed-effects modeling approach* (NONMEM approach), una metodica che consente di esplorare l'impatto da parte di variabili associate ad una data popolazione sulla cinetica dei farmaci e di quantificare la variabilità PK intra ed inter-individuale. Un altro vantaggio importante è la possibilità di ottenere dei modelli farmacocinetici di popolazione anche a partire da numeri relativamente limitati di campioni per animale (campionando molti soggetti) o a partire da popolazioni di numerosità ridotta (prelevando un discreto numero di campioni per soggetto) (Riviere et al., 2016; Bon et al., 2018).

Questa prima parte della ricerca è stata finalizzata all'ottenimento di una farmacocinetica di popolazione del propofol somministrato mediante infusione nel cane, allo studio dell'effetto di alcune covariabili sulla distribuzione del farmaco in questa specie, quindi alla creazione di un modello PK finale per la TCI di propofol nel cane, ottimizzato dall'inclusione delle covariabili distributive con impatto significativo sullo stesso.

Per questo studio sono stati reclutati animali portati a visita per procedure elettive diagnostiche presso l'Ospedale Veterinario Universitario Didattico (O.V.U.D) di Legnaro (PD). Lo studio ha ricevuto il parere favorevole da parte del Comitato Etico dell'Università di Padova (Protocollo numero 297537) e tutti i proprietari degli animali reclutati hanno dato il loro consenso informato.

4.2.1 MATERIALI E METODI: Animali e protocollo sperimentale

Ventisei cani da sottoporre ad anestesia generale per indagini programmate di risonanza magnetica nucleare sono stati reclutati per lo studio. Per tutti gli animali coinvolti sono state eseguite analisi del sangue pre-anestesiologiche ed una accurata visita clinica. Sono stati adottati i seguenti criteri di esclusione: età inferiore ai 4 mesi, peso minore di 5 kg, *American Society of Anesthesiologists (ASA) physical status classification* maggiore di 2 presenza di anemia, depressione del sensorio, stato evidente di gravidanza o lattazione, uso recente di propofol. Un punteggio di condizione corporea (da 1 a 9) veniva attribuito a ciascun cane secondo un body condition score system validato (Laflamme, 1997).

I cani hanno osservato un digiuno alimentare di almeno 8 ore, mentre l'acqua è rimasta a disposizione fino al momento della premedicazione, effettuata mediante somministrazione intramuscolare di due possibili combinazioni di farmaci: acepromazina a 0.03-0.05 mg kg⁻¹ (Fatro, Ozzano dell'Emilia, Italia) e metadone a 0.1-0.2 mg kg⁻¹ (Dechra, Bladel, Olanda), o dexmedetomidina a 0.003-0.005 mg kg⁻¹ (Pfizer, Roma, Italia) e butorfanolo a 0.2-0.3 mg kg⁻¹ (Msd Animal Health, Milano, Italia). Una volta sedati, ai cani sono stati inseriti in maniera asettica due cateteri *over-the-needle*, uno in vena cefalica, per la somministrazione di fluidi e farmaci, e l'altro in arteria metatarsale, per il monitoraggio cardiovascolare e l'esecuzione dei campionamenti di sangue. Per l'induzione ed il mantenimento dell'anestesia è stato somministrato propofol all' 1% (Fresenius Kabi, Verona, Italia) EV utilizzando un sistema TCI costituito da un computer portatile con installato un TCI software (*Computer Control Infusion Pump V.2.0E*), connesso ad una pompa infusoriale a siringa (Graseby 3500, Smiths Medical, Inghilterra) mediante cavo seriale RS-232, e programmato con il set di parametri PK proposto da Beths e colleghi (2001) (**Figura 4.1**).

Per ciascun cane sono stati inseriti nel programma il peso e la Cp target iniziale di propofol, selezionata in base all'esperienza dell'anestesista e al livello di sedazione del paziente. La velocità massima d'infusione è stata impostata a 250 mL hr⁻¹ per cani < 10 kg, 350 mL hr⁻¹ per cani tra i 10 e i 15 kg, 500 mL hr⁻¹ per cani >15kg. A seguito dell'induzione dell'anestesia l'intubazione endotracheale è stata eseguita una volta ottenuti la rotazione rostro-mediale del globo oculare, la scomparsa del riflesso palpebrale e la perdita di tono di lingua e mandibola. Se queste condizioni non fossero state raggiunte entro 7 minuti dall'inizio

dell'infusione era previsto l'aumento del target a steps di $0.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ fino al raggiungimento delle stesse. Durante il periodo d'induzione è stato somministrato ossigeno 100% mediante maschera e, una volta intubati, i cani sono stati connessi ad un circuito respiratorio circolare per la somministrazione di una miscela aria medica-ossigeno (3:1) e la ventilazione.

Per il mantenimento dell'anestesia inizialmente è stata conservata la C_p target d'induzione, successive modifiche a steps di $0.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ sono state effettuate quando ritenuto appropriato. La profondità dell'anestesia veniva valutata soggettivamente considerando la risposta del paziente alla stimolazione palpebrale, la posizione dell'occhio, ed ogni variazione sostanziale dei parametri cardiorespiratori. I cani venivano ventilati per mantenere la pressione parziale di fine espirazione di anidride carbonica tra i 35 e i 45 mmHg. Durante l'anestesia, a tutti i cani è stata somministrata una soluzione di Ringer Lattato EV a $2-4 \text{ mL Kg}^{-1} \text{ hr}^{-1}$, e, quando richiesto dall'esame di risonanza, un bolo (0.2 mL Kg^{-1}) EV di acido gadoterico (Guerbet, Milano, Italia) in corso di anestesia. I parametri cardiovascolari e respiratori (pulsazioni, pressione arteriosa diretta, frequenza respiratoria, capnografia, % di anidride carbonica e ossigeno) sono stati monitorati utilizzando un monitor multiparametrico (Datex Ohmeda S/5, GE Healthcare, Italia) e registrati ogni 5 minuti. I dati relativi alle infusioni di propofol per ciascun cane (volume, velocità, concentrazioni predette nei tre compartimenti) sono stati registrati dal software ogni 5 secondi e salvati in un foglio elettronico.

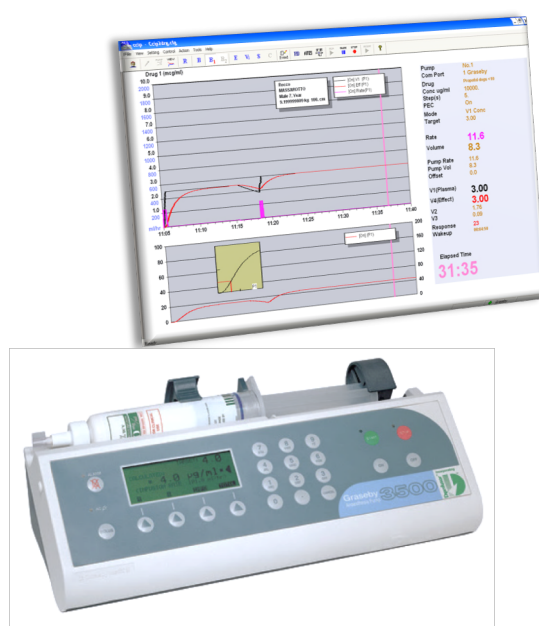


Figura 4.1 Schermata del software CCIP per la TCI e pompa infusionale Graseby 3500.

4.2.2 MATERIALI E METODI: Analisi farmacocinetica e creazione del modello

Per ciascun animale, attraverso il catetere arterioso periferico, sono stati raccolti campioni ematici (1.2 mL) in provette con K₂EDTA secondo il seguente schema: prima della somministrazione del propofol, a 2, 4, 8, 16, 30 minuti e successivamente ogni 30 minuti dall'inizio dell'infusione, e a 0, 2, 4, 8, 16, 30, 60, 120, 240 minuti dopo il termine dell'infusione. Prima di ciascun campionamento alcune gocce di sangue venivano lasciate fuoriuscire dal catetere per evitare contaminazioni del campione dal contenuto dello spazio morto.



Figura 4.2 Procedura di campionamento.

I campioni prelevati venivano mantenuti refrigerati fino al termine del caso, per poi essere stoccati a -80°C e analizzati entro tre settimane dalla raccolta. La determinazione delle concentrazioni di propofol è stata effettuata mediante HPLC (cromatografia liquida ad alta prestazione) con rivelatore a fluorescenza, sulla base di una metodica precedentemente descritta in letteratura (Zonca et al., 2012). La metodica di analisi è stata validata internamente al laboratorio secondo la normativa europea (EudraLex 2005, Volume 8), per specificità, linearità nel range 0.01 - 10 µg mL⁻¹ (r² = 0.991), precisione (ripetibilità infragiornaliera, CV%: 1.93 - 2.32 %) e accuratezza (2.1 - 4.25 %). Il limite di quantificazione (LOQ) era 0.01 µg mL⁻¹, quello di rilevamento (LOD) era 0.0018 µg mL⁻¹. Il recupero medio del propofol dai campioni di sangue era 81 ± 14 %.

L'analisi farmacocinetica dei dati è stata eseguita utilizzando un *nonlinear mixed-effects modeling approach* (NONMEM, computer program version 7, ICON Development Solutions, PA, USA). Lo storico delle infusioni di propofol, inclusi ogni cambiamento nella velocità d'infusione, la durata, come anche le concentrazioni di propofol misurate per ciascun paziente, sono stati considerati come inputs per la creazione del modello PK. NONMEM consente regressioni non lineari multiple dei dati della popolazione simultaneamente, il che significa che i parametri cinetici possono essere descritti come valori tipici e variabilità intra e inter-individuale della popolazione considerata, e come valori individuali. La variabilità inter-individuale non spiegabile (*unexplained_IIV*) descrive la varianza nei parametri PK tra soggetti diversi, mentre la variabilità intra-individuale descrive gli errori residuali risultanti, ad esempio, da errori di analisi, imprecisioni nella registrazione temporale, errata specificazione del modello. Questo approccio, consente di valutare quantitativamente l'influenza delle covariabili sui parametri del modello, il che consente di spiegare parte della variabilità inter-individuale riducendo così la *unexplained_IIV*. Inoltre, usando l'approccio NONMEM può essere mantenuto relativamente basso il numero di osservazioni per soggetto (Riviere et al., 2016).

Il profilo farmacocinetico è stato supposto essere lineare con due o tre compartimenti ed eliminazione da quello centrale. Sono possibili parametrizzazioni multiple di questo modello matematico: i parametri stimati per il modello PK di base (cioè il modello senza effetti da parte delle covariabili) sono stati il volume del compartimento centrale (V_1), la costante di eliminazione dal compartimento centrale (K_{10}) e le costanti di trasferimento tra compartimento centrale e quelli periferici (K_{12} , K_{13} , K_{21} , K_{31}). La *unexplained_IIV* per ciascuno di questi parametri è stata descritta come distribuzione lognormale, la cui varianza è stata calcolata. La variabilità intra-individuale è stata descritta come una variabile casuale additiva, con media zero e deviazione standard pari a

$$\sqrt{a^2 + b^2 \cdot IPRED^2}$$

dove a e b sono costanti calcolate (rispettivamente note come DS del modello di errore additivo e CV del modello di errore proporzionale) e IPRED è la concentrazione di propofol individuale predetta.

Sono state considerate come covariabili rilevanti da indagare il peso corporeo, il *body condition score* (BCS), l'età, l'età in relazione alla taglia (Age_size), il sesso, il tipo di premedicazione (con acepromazina e metadone o con dexmedetomidina e butorfanolo),

la taglia del cane e la somministrazione dell'agente di contrasto. I cani sono stati classificati sulla base del BCS sia in 3 che in 4 categorie: sottopeso (BCS < 4), normopeso (BCS 4 - 6), sovrappeso (BCS >6) / sottopeso (BCS < 4), normopeso (BCS 4 - 5), sovrappeso (BCS >5 - 7) e obeso (>7), rispettivamente. Sulla base del peso, inoltre, sono stati classificati in 4 tipologie di taglia: piccola (≤ 9 kg), medio-piccola (> 9 kg e ≤ 25 kg), medio-grande (> 25 kg e ≤ 40 kg), gigante (> 40 kg).

Sulla base di due cut-offs differenti per ciascuna tipologia di taglia i cani sono stati classificati come adulti o anziani, pertanto, sono state investigate due differenti covariabili distributive definite Age_size1 e Age_size2. Per la covariabile Age_size1 i cani sono stati considerati anziani se di taglia piccola ed età ≥ 10 anni, se di taglia medio-piccola ed età ≥ 9 anni, se di taglia medio-grande ed età ≥ 8 anni, se di taglia gigante ed età ≥ 7 anni. Per la covariabile Age_size2 sono stati adottati dei cut-offs più restrittivi pari a ≥ 11 , ≥ 10 , ≥ 9 e ≥ 8 anni, rispettivamente.

Una volta ottenuto, mediante l'analisi di tutti i dati, il modello PK di base privo di covariabili, l'effetto di ciascuna covariabile sui parametri PK del modello è stato valutato utilizzando la procedura "scm" implementata in PsN (Lindbom, 2005). Un primo screening ha consentito il riconoscimento delle associazioni tra covariabili e parametri da includere nel modello NONMEM multivariato. Successivamente, è stato creato il modello PK finale utilizzando un approccio graduale a steps: gli effetti individuali delle covariate su ciascun parametro PK sono stati incorporati nel modello, uno per uno, quando apportavano un miglioramento statisticamente significativo del *likelihood* dei dati (steps avanti), per poi venire rimossi dal modello, di nuovo uno per uno, quando non generavano una significativa riduzione dello stesso *likelihood* (steps indietro). Quando un'associazione covariabile/parametro era descritta da un singolo parametro, una diminuzione dell'*objective function value* (OFV, pari a -2 volte il logaritmo del *likelihood*) di almeno 3,84 ed un aumento di massimo 6,64, sono stati considerati rispettivamente come criteri di inclusione ed esclusione per l'associazione ($p < 0,05$ e $p < 0,01$ rispettivamente).

L'accuratezza del modello è stata valutata calcolando il residuo ponderato (*weighted residual*, WR) e il residuo ponderato assoluto (AWR) per ciascun campione. I valori mediani individuali di WR (MWRind) e AWR (MAWRind), calcolati considerando per i parametri PK del modello sia gli effetti delle covariabili che le singole deviazioni casuali, sono stati utilizzati come misure generali per la bontà di adattamento (*goodness of fit*). I valori

mediani di WR per la popolazione (MWRpop) e AWR (MAWRpop), calcolati senza considerare le deviazioni casuali individuali nei parametri PK del modello (cioè senza *unexplained_IV*), sono stati utilizzati come misure per la bontà prevista di predizione di nuovi dati (*goodness of prediction*).

4.3.1 RISULTATI: Animali e protocollo sperimentale

Dei 26 cani coinvolti nello studio 16 erano maschi e 10 erano femmine, con un'età mediana di 7 anni (1 - 14 anni) e peso corporeo mediano pari a 12,25 kg (5 - 41,5kg). Circa un terzo era sterilizzato (35%). Dodici cani (46%) sono stati premedicati con acepromazina e metadone, i restanti con dexmedetomidina e butorfanolo (54%). Il mezzo di contrasto è stato somministrato durante l'anestesia in 18 cani (69%). Sulla base del BCS, cinque cani erano sottopeso (19%), sei normopeso (23%) e quindici sovrappeso (58%). Sette cani erano di piccola taglia (27%), dodici di medio-piccola taglia (46%), sei di taglia medio-grande (23%) e uno di taglia gigante (4%).

CANE	NOME	RAZZA	ETA aa	SESSO	PESO kg
1	Spritz	Pastore Australiano	3,0	Mi	32,7
2	Teo	Boxer	8,0	Mi	27,0
3	Sky	Cane da orso della Carelia	11,0	Fs	22,2
4	Rocco	Meticcio	7,0	Mi	9,2
5	Dancer	Cocker Spaniel	6,5	Fi	9,7
6	Luna	Meticcio	3,0	Fs	5,7
7	Athos	Bracco	8,0	Mi	28,0
8	Cooper	Buldog francese	6,0	Mi	10,5
9	Otto	Beagle	3,5	Mi	18,5
10	Poker	Pastore Australiano	2,0	Mc	35,1
11	Luna	Bassotto	5,0	Fs	7,8
12	Zoe	Meticcio	4,0	Fs	6,1
13	Ugo	Meticcio	9,0	Mi	7,2
14	Gaja	Meticcio	5,0	Fi	10,0
15	Nathalie	Buldog francese	3,5	Fi	13,0
16	Leone	Barbone nano	6,0	Mi	5,0
17	India	Whippet	9,0	Fs	14,9
18	Sansone	Shitzu	10,0	Mi	7,4
19	Sheila	Meticcio	8,0	Fs	11,5
20	Full	Pastore Tedesco	10,0	Mi	41,5
21	Frankie	Meticcio	14,0	Mi	13,1
22	Speck	Cavalier King Charles Spaniel	1,0	Mi	9,8
23	Tu	Boxer	8,0	Mc	34,6
24	Paki	Meticcio	10,0	Fs	7,9
25	Aaron	Pastore Tedesco	6,0	Mi	39,8
26	Spritz	Cocker Spaniel	7,0	Mi	14,0

Tabella 4.1 Segnalamento dei soggetti reclutati per la prima parte dello studio.

4.3.2 RISULTATI: Modello PK e covariabili significative

Un totale di 412 campioni di sangue sono stati raccolti e analizzati. L' OFV del modello bi-compartimentale era 319,08 e diminuiva a 285,53 ricorrendo al modello tri-compartimentale. I risultati dell'intera procedura di modellazione graduale delle covariabili sono riportati nella **Tabella 4.2**, dal primo all'ultimo step, che coincide con il modello farmacocinetico finale. L'aggiunta delle sei associazioni significative covariabile/parametro al modello finale ha prodotto una riduzione dell'OFV da 285,53 a -22,34. Ad ogni step, la procedura di modellazione ha ridotto i valori di MWR e di MAWR (sia a livello di popolazione che individuale) o la *unexplained_IIV* dei parametri PK. Il residuo ponderato del modello finale ha rivelato valori mediani rispettivamente di 0,7 e 31,2 per MWRpop e MAWRpop, e, rispettivamente, di -2,3 e 16,2 per MWRind e MAWRind.

Il set di parametri farmacocinetici del modello finale è riportato in **Tabella 4.3**. Nella popolazione di cani di questo studio, V_1 è risultato essere influenzato significativamente dal peso dei cani ($p < 10^{-5}$), K_{10} dal peso ($p < 10^{-3}$), dalla covariata Age_size2 ($p < 10^{-5}$) e dal tipo di premedicazione ($p < 10^{-2}$), mentre K_{13} , da Age_size1 ($p < 10^{-2}$) e dal sesso ($p < 10^{-2}$). L'effetto delle altre covariabili studiate (BCS, età, taglia e somministrazione dell'agente di contrasto) sui parametri PK non è risultato significativo. La statistica di base e alcuni valori tipici per i parametri PK e i parametri cinetici che da loro possono essere derivati sono riportati nella **Tabella 4.4**.

model	OFV	MWRind (%)	MAWRind (%)	MWRpop (%)	MAWRpop (%)	$\theta 1$ (L)	$\theta 2$ (min ⁻¹)	$\theta 3$ (min ⁻¹)	$\theta 4$ (min ⁻¹)	$\theta 5$ (min ⁻¹)	$\theta 6$ (min ⁻¹)	$\theta 7$	$\theta 8$	$\theta 9$	$\theta 10$	$\theta 11$	$\theta 12$	
(1)	319.08	-3.0	17.2	116.6	116.6	3.58 (33.4)	0.325 (82.9)	0.0571 (45.1)	0.0157 (12.7)									
(2)	285.53	-6.7	18.4	0.7	52.7	0.931 (34.8)	0.706 (7.1)	0.177 (14.4)	0.0100 (5.3)	1.06 (43.7)	0.351 (0.0)							
(3)	49.78	-2.1	15.4	2.8	34.9	1.10 (3.1)	0.570 (8.0)	0.172 (16.0)	0.0102 (21.5)	0.847 (43.9)	0.299 (0.0)	0.0815						
(4)	33.95	-1.7	16.1	2.2	36.4	1.76 (5.6)	0.399 (5.7)	0.113 (10.8)	0.0102 (18.6)	0.485 (48.2)	0.278 (0.0)	0.102	-0.0143					
(5)	7.76	-3.0	16.8	4.3	37.3	0.995 (5.0)	0.608 (5.2)	0.182 (9.6)	0.00966 (19.0)	0.855 (41.9)	0.231 (0.0)	0.101	-0.0138	0.311				
(6)	-10.43	-2.7	17.1	2.2	32.1	1.32 (3.9)	0.444 (2.6)	0.135 (10.5)	0.00952 (17.6)	0.631 (34.6)	0.215 (0.0)	0.0976	-0.0127	0.205	0.448			
(7)	-18.34	-2.5	16.7	2.2	33.2	1.51 (3.7)	0.396 (2.8)	0.145 (8.7)	0.00986 (14.4)	0.554 (36.4)	0.226 (0.0)	0.0963	-0.0123	0.188	0.451	-0.359		
(8)	-22.34	-2.3	16.2	0.7	31.2	1.48 (3.9)	0.382 (2.2)	0.129 (7.1)	0.00993 (13.3)	0.544 (37.0)	0.228 (0.0)	0.0933	-0.0111	0.209	0.521	-0.345	0.347	

(1) modello bi-compartimentale;

(2) modello bi-compartimentale;

(3) $V1 = \theta 1 \cdot (1 + \theta 7 \cdot (WGT - 12.25))$, con WGT come peso corporeo in kg;

(4) $K10 = \theta 2 \cdot (1 + \theta 8 \cdot (WGT - 12.25))$;

(5) $K10 = \theta 2 \cdot (1 + \theta 8 \cdot (WGT - 12.25)) \cdot K10PR1$, con $K10PR1 = 1 + \theta 9$ se premedicazione con acepromazina e metadone, $K10PR1 = 1$ altrimenti;

(6) $K10 = \theta 2 \cdot (1 + \theta 8 \cdot (WGT - 12.25)) \cdot K10PR1 \cdot K10AG2$, con $K10PR1 = 1 + \theta 9$ se premedicazione con acepromazina e metadone, $K10PR1 = 1$ altrimenti, $K10AG2 = 1 + \theta 10$ se anziano secondo Age_size2, $K10AG2 = 1$ altrimenti;

(7) $K13 = \theta 3 \cdot K13SE1$, con $K13SE1 = 1 + \theta 11$ se femmina, $K13SE1 = 1$ altrimenti;

(8) $K13 = \theta 3 \cdot K13SE1 \cdot K13AG1$, con $K13SE1 = 1 + \theta 11$ se femmina, $K13SE1 = 1$ altrimenti, $K13AG1 = 1 + \theta 12$ se anziano secondo Age_size1, $K13AG1 = 1$ altrimenti;

Significato di $\theta 1 - \theta 12$ come per la Tabella 4.3; OFV = $-2 \cdot \log(\text{likelihood})$; MWRind e MAWRind sono rispettivamente i residui ponderati mediani e i residui ponderati assoluti mediani quando ottenuti da parametri individuali, MWRpop e MAWRpop, rispettivamente, quando ottenuti invece da parametri di popolazione; per ciascun θ , il coefficiente di variazione per la relativa variabilità inter-individuale non spiegata è indicato tra parentesi come percentuale.

Tabella 4.2 Risultati della modellazione per gradi delle covariabili.

Model parameter	Equation for the population value	Unexplained inter-individual variability (CV %)
V ₁ (L)	$\theta 1 \cdot (1 + \theta 7 \cdot (\text{WGT} - 12.25))$	3.9
K ₁₀ (min ⁻¹)	$\theta 2 \cdot (1 + \theta 8 \cdot (\text{WGT} - 12.25)) \cdot K10PR1 \cdot K10AG2$	2.2
K ₁₂ (min ⁻¹)	$\theta 5$	37.0
K ₂₁ (min ⁻¹)	$\theta 6$	0.0
K ₁₃ (min ⁻¹)	$\theta 3 \cdot K13SE1 \cdot K13AG1$	7.1
K ₃₁ (min ⁻¹)	$\theta 4$	13.3

Parameter estimate	Value	Standard error
$\theta 1$ (L)	1.48	0.0587
$\theta 2$ (min ⁻¹)	0.382	0.144
$\theta 3$ (min ⁻¹)	0.129	0.0537
$\theta 4$ (min ⁻¹)	0.00993	0.00162
$\theta 5$ (min ⁻¹)	0.544	0.634
$\theta 6$ (min ⁻¹)	0.228	0.096
$\theta 7$	0.0933	0.00912
$\theta 8$	-0.0111	0.00468
$\theta 9$	0.209	0.110
$\theta 10$	0.521	0.205
$\theta 11$	-0.345	0.00468
$\theta 12$	0.347	0.304
a (mg·L ⁻¹)	0.00273	0.224
b	0.277	0.034

V₁: volume di distribuzione del compartimento centrale; K₁₀: costante di eliminazione dal compartimento centrale; K₁₂, K₂₁, K₁₃ e K₃₁: costanti di trasferimento tra i compartimenti (il primo numero a pedice si riferisce al compartimento dal quale avviene il trasferimento); a: deviazione standard del modello di errore additivo; b: coefficiente di variazione del modello di errore proporzionale. WGT = peso in kg; K10PR1 = 1+ $\theta 9$ se premedicazione con acepromazina e metadone, K10PR1 = 1 altrimenti; K10AG2 = 1+ $\theta 10$ se anziano secondo Age_size2, K10AG2 = 1 altrimenti; K13SE1 = 1+ $\theta 11$ se femmina, K13SE1 = 1 altrimenti; K13AG1 = 1+ $\theta 12$ se anziano secondo Age_size1, K13AG1 = 1 altrimenti.

Tabella 4.3 Parametri farmacocinetici del modello finale.

<i>Parameter</i>	<i>Mean</i>	<i>sd</i>	<i>Median</i>	<i>min</i>	<i>max</i>	<i>Typical*</i>
C_{max} ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	84.697	14.019	82.262	62.382	110.191	82.770
V_1 (ml kg^{-1})	121.239	20.142	121.658	90.751	160.302	120.816
K_{10} (1 min^{-1})	0.430	0.129	0.412	0.252	0.830	0.382
K_{12} (1 min^{-1})	0.747	0.383	0.655	0.294	1.950	0.544
K_{21} (1 min^{-1})	0.228	0.000	0.228	0.228	0.228	0.228
K_{13} (1 min^{-1})	0.130	0.039	0.131	0.057	0.234	0.129
K_{31} (1 min^{-1})	0.011	0.003	0.010	0.006	0.021	0.010
$t_{1/2 K10}$ (min)	1.734	0.464	1.685	0.835	2.751	1.815
$t_{1/2\alpha}$ (min)	0.515	0.130	0.499	0.254	0.740	0.585
$t_{1/2\beta}$ (min)	7.837	2.307	7.461	4.946	13.367	6.930
$t_{1/2\gamma}$ (min)	96.724	33.971	90.962	50.270	216.831	95.045
AUC ($\mu\text{g ml}^{-1} \text{ min}$)	212.235	70.205	205.352	97.449	437.266	216.676
MRT (min)	45.094	24.498	39.329	15.647	138.524	42.871
V_{ss} (ml/kg)	2188.024	1048.618	2197.801	728.484	6251.957	1978.597
V_2 (ml/kg)	393.227	195.166	341.507	123.421	845.000	288.264
V_3 (ml/kg)	1673.558	1025.134	1588.270	441.845	5911.905	1569.517
CL_1 ($\text{ml min}^{-1} \text{ kg}^{-1}$)	52.200	17.989	48.800	22.869	102.618	46.152
CL_2 ($\text{ml min}^{-1} \text{ kg}^{-1}$)	89.656	44.498	77.864	28.140	192.660	65.724
CL_3 ($\text{ml min}^{-1} \text{ kg}^{-1}$)	15.953	5.921	16.621	5.821	33.107	15.585

C_{max} : concentrazione massima; V_1 : volume di distribuzione del compartimento centrale; K_{10} : costante di eliminazione dal compartimento centrale; K_{12} , K_{21} , K_{13} , e K_{31} : costanti di trasferimento tra i compartimenti; $t_{1/2 K10}$: emivita della costante di eliminazione dal compartimento centrale; $t_{1/2\alpha}$, $t_{1/2\beta}$, $t_{1/2\gamma}$: emivite di distribuzione rapida, distribuzione lenta e fase di eliminazione terminale; AUC: area sotto la curva tempo-concentrazione; MRT: tempo medio di permanenza; V_{ss} : volume di distribuzione allo *steady state*; V_2 : volume di distribuzione nel compartimento periferico rapido; V_3 : volume di distribuzione nel compartimento periferico lento; CL_1 : *clearance* di eliminazione; CL_2 : *clearance* tra i compartimenti 1 e 2; CL_3 : *clearance* tra i compartimenti 1e 3.
* valori tipici per un cane maschio adulto (in termini sia di Age_size1 sia di Age_size2) con il peso mediano della popolazione (12.25 kg) e premedicati con dexmedetomidina e butorfanolo (n=26).

Tabella 4.4 Parametri farmacocinetici del propofol dopo infusione EV nel cane.

4.4 DISCUSSIONE

La farmacocinetica del propofol è risultata essere meglio descritta da un modello tri-compartimentale. Nonostante il numero non elevato di cani utilizzati per lo studio, è stato possibile identificare degli effetti significativi da parte di alcune covariabili su tre dei sei parametri PK totali del modello. L'aggiunta delle associazioni covariabile/parametro al modello base ha portato ad un marcato miglioramento della *unexplained_IV* dei parametri PK, della *goodness of fit* e *goodness of prediction* di nuovi dati.

L'aggiunta del peso corporeo del cane al modello PK produce un marcato miglioramento dello stesso, in particolare come covariabile per V_1 . Ciò è coerente con i risultati dello studio farmacocinetico di Lee et al. (2009), i quali hanno studiato l'effetto di quattro diverse covariate (peso, età, superficie corporea e sesso) per il propofol in cani beagle, trovando come effetto significativo solo quello del peso su V_1 . Il volume di distribuzione nel compartimento centrale medio e mediano per la popolazione di questo studio erano rispettivamente pari a $121,24 \pm 20,14 \text{ ml kg}^{-1}$ e $121,66 (90,75 - 170,30) \text{ ml kg}^{-1}$, valori questi, molto simili a quelli riportati in letteratura per il propofol somministrato nell'uomo (Schüttler and Ihmsen, 2000). La maggior parte dei precedenti studi sulla PK del propofol nel cane invece, riportano valori di V_1 maggiori rispetto al nostro (vedi Tabella 1.1 del primo capitolo di questa tesi). Questo non dovrebbe sorprendere più di tanto se si considera la diversità degli studi, per esempio per quanto concerne le caratteristiche demografiche della popolazione indagata, la sua dimensione, i diversi metodi di somministrazione del propofol o di prelievo dei campioni per le analisi. Buona parte di questi lavori sono stati condotti su un numero ristretto di animali, spesso della stessa razza e con caratteristiche demografiche molto simili, ciò di per sé può portare a risultati poco rappresentativi di una specie eterogenea come quella canina.

Nell'uomo, in accordo con quanto emerso dal nostro studio, è riportata l'esistenza di un effetto della 'covariabile peso' sulla *clearance* del propofol dal compartimento centrale (K_{10}), e l'assenza invece, di effetti significativi sul profilo PK del propofol da parte della condizione corporea del paziente (% di grasso corporeo) (van Kralingen et al., 2011). Alcuni studi sul cane hanno osservato la presenza di differenze nei profili PK del propofol di levrieri (cani dolicomorfi con scarse riserve adipose) e cani di altre razze, attribuendole ai diversi livelli di grasso corporeo (Robertson et al., 1992; Zoran et al., 1993; Hay Kraus et al., 2000).

I cani del nostro studio, utilizzando soglie differenti, sono stati categorizzati sia in quattro che in tre classi sulla base del BCS loro attribuito. Tuttavia, dall'analisi delle covariabili la condizione corporea non ha dimostrato di avere degli effetti significativi sui parametri PK del modello.

Il processo d'invecchiamento può alterare la farmacocinetica (come anche la farmacodinamica) dei farmaci (Rivera and Antognini, 2009). Esso infatti, con differenze legate alla variabilità individuale, generalmente si associa ad una progressiva riduzione di funzionalità di organi e apparati e ad un aumento nell'incidenza/rischio di patologie di varia natura (e.g., valvulopatie, endocrinopatie, neoplasie). Ciò nonostante, i cambiamenti legati all'età non si verificano con le stesse tempistiche in ogni soggetto e questo è particolarmente vero all'interno della specie canina, considerata la grande variabilità esistente in relazione alle dimensioni del cane. In particolare, è dimostrata l'esistenza di una relazione inversa tra la durata della vita ed il peso dell'animale (come surrogato delle dimensioni/della taglia) (Urfer et al., 2011). Nonostante non ci fossero precisi riferimenti in letteratura, questo aspetto ci ha portati a voler introdurre ed analizzare un nuovo tipo di variabile (Age_size) per identificare i soggetti "anziani", che considerasse l'età non come valore numerico assoluto ma come variabile correlata con la taglia del cane. Sebbene non esista una definizione esatta, è consuetudine considerare come anziano un soggetto che ha vissuto circa il 75% della sua aspettativa di vita (Reid and Nolan, 1996; Rivera and Antognini, 2009). Considerato ciò e considerando l'aspettativa di vita media in base alla taglia (individuata in base al peso corporeo) ricavata da alcuni studi presenti in letteratura (Jones et al., 2008; Urfer et al., 2011), i cani di questo studio venivano classificati come adulti o anziani (no soggetti pediatrici nello studio). A parità di taglia, l'invecchiamento cronologico dell'animale non sempre procede di pari passo con quello fisiologico e l'età anagrafica dell'animale potrebbe quindi non corrispondere all'età 'fisiologica'. Per limitare l'inevitabile presenza di un certo grado di errore sono stati utilizzati due differenti cut-offs per ciascuna categoria di taglia, uno più restrittivo dell'altro, da cui le due covariabili Age_size1 e Age_size2.

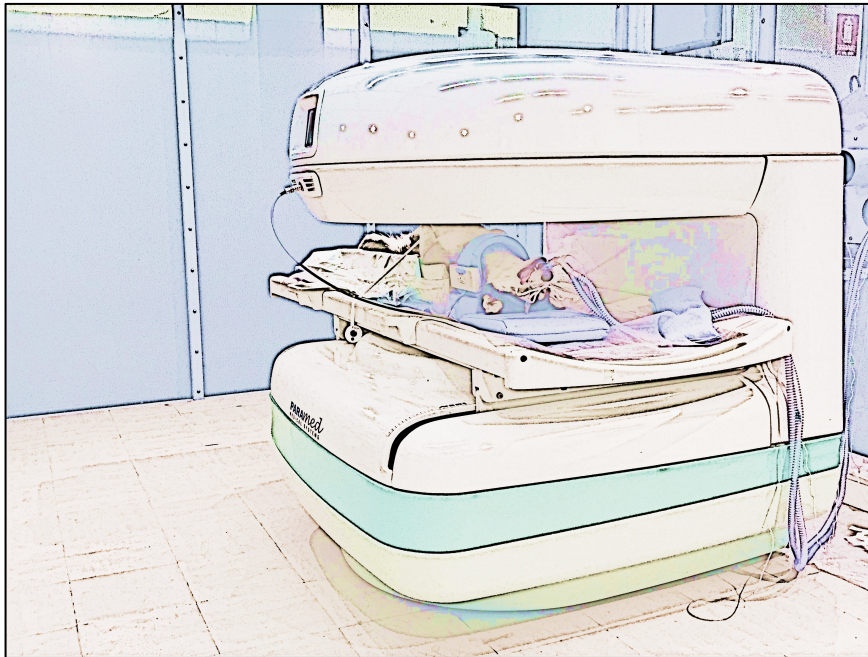
Diversamente da quanto è stato riportato per i cani e gli esseri umani (Reid and Nolan, 1996; Rivera and Antognini, 2009), da questo studio non è emerso che la *clearance* del propofol diminuisse nei pazienti anziani, al contrario, i cani anziani secondo Age_size2 (taglia piccola e ≥ 11 anni, taglia medio-piccola e ≥ 10 anni, taglia medio-grande e ≥ 9 anni,

taglia gigante e ≥ 8 anni) hanno evidenziato valori di K_{10} superiori. Non si può escludere che, i siti extraepatici di metabolizzazione del propofol (Cockshott et al., 1992; Veroli et al., 1992), quando cronicamente presente una diminuita funzionalità di metabolizzazione da parte del fegato (come ci si aspetta in un animale anziano), possano aumentare di riflesso la loro attività aumentando nel complesso la *clearance* del farmaco. In questo studio, i cani anziani (secondo Age_size1, ovvero taglia piccola e ≥ 10 anni, taglia medio-piccola e ≥ 9 anni, taglia medio-grande e ≥ 8 anni, taglia gigante e ≥ 7 anni) dimostrano anche una maggiore velocità di trasferimento dal compartimento centrale a quello periferico lento (V_3). La composizione corporea degli animali cambia con l'invecchiamento, con sostituzione dei tessuti metabolicamente attivi con tessuto adiposo (Reid and Nolan, 1996); di conseguenza, farmaci lipofili come il propofol potrebbero venire distribuiti nel V_3 in maniera più ampia.

Un'altra covariabile significativa è risultata essere il sesso, per la costante intercompartimentale di trasferimento da V_1 a V_3 , con un valore tipico più alto per il maschio rispetto alla femmina. Questo, di nuovo, potrebbe essere correlato alle differenze nella composizione corporea dei cani nei due sessi.

La conclusione di questa prima parte della ricerca ha permesso di raggiungere gli obiettivi prefissati, portando alla realizzazione finale di un modello PK per la TCI di propofol nel cane ottimizzato dall'inclusione di covariabili distributive. Il modello finale, come indicato dai valori vicini allo zero di MWR, di MAWR e *unexplained_IV*, sembra capace di descrivere la farmacocinetica di popolazione del propofol con buona accuratezza e precisione. L'efficienza di un sistema TCI deve essere valutata e validata prima di poterlo utilizzare nella pratica clinica. La seconda parte della ricerca, quindi, è stata dedicata alla verifica delle performance predittive del modello realizzato, per la TCI di propofol nel cane in ambito clinico.

VALIDAZIONE DEL NUOVO MODELLO PER LA TCI DI PROPOFOL NEL CANE



5.1 INTRODUZIONE

Nell'ambito della medicina umana l'infusione a target controllato è una tecnologia considerata oramai matura e sicura, con diversi sistemi TCI esistenti approvati per l'infusione di propofol nell'ambito della routinaria pratica anestesiologicala (Absalom et al., 2016; Schnider et al., 2016). Le performance di un sistema TCI dipendono fondamentalmente dal modello farmacocinetico utilizzato dal computer-software per predire le concentrazioni, e possono essere valutate attraverso degli studi clinici che riproducono le normali condizioni di utilizzo della tecnica, confrontando le concentrazioni predette e quelle misurate nel sangue a vari time points durante e dopo l'infusione del farmaco (Varvel et al., 1992).

Un modello PK per la TCI ottimizzato da covariabili può contribuire molto alla capacità dell'anestesista di titolare accuratamente i farmaci ad effetto in una popolazione eterogenea di pazienti, poiché potenzialmente capace di 'spiegare' parte della variabilità interindividuale attraverso l'individualizzazione dei parametri PK in conformità alle covariabili del paziente (Egan, 2003; Schnider et al., 2016; Eleveld et al., 2018).

Varvel et al. (1992) hanno definito quattro parametri utili per la valutazione delle performance di un sistema TCI che si basano sull'errore predittivo percentuale (PE): l'errore predittivo mediano (MDPE), una misura dell'inclinazione complessiva delle predizioni (*bias*); l'errore predittivo mediano assoluto (MDAPE), un indice di accuratezza; la divergenza, una misura di come l'accuratezza cambia nel tempo; il valore di oscillazione (*wobble*) un indice di variabilità intrasoggettiva. L'infusione assistita da computer è riportata essere clinicamente accettabile e utilizzabile nei pazienti umani se l' MDPE del sistema TCI (o del modello PK) non è maggiore del $\pm 10-20\%$ e l' MDAPE è nel range del 20-30%, con un variazione massima non superiore al 50-60% (Schüttler et al., 1988; Egan, 2003; Masui et al., 2010).

Questa seconda parte della ricerca è stata finalizzata alla valutazione delle performance predittive del modello realizzato nella prima parte, per la TCI di propofol nel cane nell'ambito della comune pratica anestesiologicala. Lo studio ha ricevuto il parere favorevole da parte del Comitato Etico dell'Università di Padova (Protocollo numero 297537) e tutti i proprietari degli animali inclusi nello studio hanno dato il loro consenso informato.

5.2.1 MATERIALI E METODI: Animali e protocollo sperimentale

Quattordici cani da sottoporre ad anestesia generale per indagini programmate di risonanza magnetica nucleare sono stati reclutati per lo studio. Per tutti gli animali coinvolti sono state eseguite analisi del sangue pre-anestesiologiche ed una accurata visita clinica. Sono stati adottati i medesimi criteri di esclusione dello studio della prima parte della ricerca: età inferiore ai 4 mesi, peso minore di 5 kg, American Society of Anesthesiologists (ASA) physical status classification maggiore di 2, presenza di anemia, depressione del sensorio, stato evidente di gravidanza o lattazione, uso recente di propofol.



Figura 5.1 Cane sottoposto a RMN in anestesia con TCI di propofol.

I cani hanno osservato un digiuno alimentare di almeno 8 ore, mentre l'acqua è rimasta a disposizione fino al momento della premedicazione, effettuata mediante somministrazione intramuscolare di una delle due combinazioni di farmaci utilizzate per lo studio PK (acepromazina e metadone o dexmedetomidina e butorfanolo). Una volta sedati, ai cani sono stati inseriti in maniera asettica due cateteri *over-the-needle*, uno in vena cefalica, per la somministrazione di fluidi e farmaci, e l'altro in arteria metatarsale, per il monitoraggio cardiovascolare e l'esecuzione dei campionamenti di sangue. Per l'induzione ed il mantenimento dell'anestesia è stato somministrato propofol all'1% EV utilizzando lo stesso

sistema TCI adottato nel precedente studio, tranne che per il set di parametri PK inseriti nel *software* di controllo. Per ciascun cane, infatti, è stato calcolato uno specifico set di parametri da inserire nel *software* CCIP, in accordo con le equazioni del modello PK sviluppato nella prima parte della ricerca. Per ogni cane, quindi, il tipo di premedicazione, il peso, il sesso, l'età e la taglia sono state considerate quali covariabili distributive dal sistema TCI. La categoria di taglia è stata individuata in base al peso corporeo, come è stato fatto per i cani dello studio farmacocinetico (cap. 4.2.2).

Per questo studio è stato adottato lo stesso protocollo sperimentale e anestesiologicalo descritto per i 26 cani del precedente studio, ad eccezione dello schema di campionamento. Anche in questo caso, i dati relativi alle infusioni di propofol per ciascun cane sono stati registrati dal software ogni 5 secondi e salvati in un foglio elettronico.

5.2.2 MATERIALI E METODI: Analisi statistica ed elaborazione dei dati

Per ciascun animale, attraverso il catetere arterioso periferico, sono stati raccolti campioni ematici (1.2 mL) in provette con K₂EDTA secondo il seguente schema: prima della somministrazione del propofol, a 3 e 7 minuti dall'inizio dell'infusione, a 0, 3 e 7 minuti dopo ogni cambio della Cp target, ogni 30 minuti dall'ultimo campionamento (durante l'infusione), a 0, 3, 7, 30, 60 minuti dopo il termine dell'infusione e all'estubazione. Il limite massimo per il volume totale di sangue prelevabile era di 4 mL Kg⁻¹. Prima di ciascun campionamento alcune gocce di sangue venivano lasciate fuoriuscire dal catetere per evitare contaminazioni del campione dal contenuto dello spazio morto. La gestione, lo stoccaggio e l'analisi dei campioni mediante HPLC sono stati eseguiti come precedentemente descritto per la prima parte della ricerca.

Sono stati elaborati tutti i dati relativi alle infusioni di propofol e alle concentrazioni predette registrati dal software CCIP per ciascun animale. Per le analisi statistiche è stato utilizzato il software XLSTAT per Microsoft Excel. Le performance predittive del modello PK per l'infusione assistita da computer realizzato nella prima parte, sono state investigate tramite la comparazione delle Cp di propofol predette con quelle direttamente misurate nel sangue, secondo la metodologia descritta da Varvel e colleghi (1992). Per ciascun campione di sangue è stato calcolato l'errore predittivo percentuale (PE) delle Cp di propofol predette. Per ciascuna infusione, inoltre, sono stati individuati eventuali *outliers* per i valori di PE rispetto al 25° e 75° percentile. A partire dai valori di PE sono stati calcolati quattro indici di performance (MDPE, MDAPE, divergenza e *wobble*) per ogni TCI eseguita. I valori mediani ed i range dei quattro indici sono stati calcolati per descrivere le performance complessive del modello sviluppato per la TCI di propofol.

La distribuzione dei dati demografici e di alcuni parametri selezionati relativi al periodo perianestetico è stata valutata visivamente ispezionando i Q-Q plots e mediante test di normalità di Shapiro-Wilk. La presenza di eventuali correlazioni significative tra il tempo di estubazione e la durata totale dell'infusione o la velocità media di infusione del propofol è stata valutata calcolando il coefficiente di correlazione di Pearson. Per la correlazione tra il tempo di estubazione ed il tipo di premedicazione utilizzata, invece, è stato utilizzato il t test di Student. Il livello di significatività è fissato al 5% e i dati vengono presentati come media ± SD o come mediana e range come opportuno a seconda del caso.

5.3.1 RISULTATI: Animali e protocollo sperimentale

Tutti i 14 cani coinvolti hanno completato lo studio. Le caratteristiche demografiche dei pazienti ed i dati relativi ad alcuni parametri indagati rappresentativi del periodo perianestetico, sono riportati nella tabella sottostante.

<i>Variabile</i>	<i>Valore*</i>
Peso corporeo (Kg)	23 ± 9.4
Età (Anni)	6.4 ± 2.7
<i>Soggetti anziani con il primo cut-off**</i>	5/14
<i>Soggetti anziani con il secondo cut-off**</i>	2/14
Sesso <i>Maschi : Femmine</i>	11 : 3
Premedicazione <i>Acepromazina-metadone : Dexmedetomidina-butorfanolo</i>	7 : 7
Taglia <i>Piccola</i>	1/14
<i>Medio-piccola</i>	7/14
<i>Medio-grande</i>	6/14
Target di induzione ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	5.5 (4 – 6.5)
Tempo di intubazione (minuti)	5 ± 0.9
Durata totale dell'infusione (minuti)	96 (72 – 143)
Volume totale di propofol infuso (mL)	66.3 ± 30
Velocità di infusione media ($\text{mg kg}^{-1} \text{ minuto}^{-1}$)	0.3 ± 0.1
Numero di variazioni del target	2 (1 – 2)
Target di estubazione ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	1.6 ± 0.5
Concentrazione misurata all'estubazione ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	1.7 ± 0.7
Tempo di estubazione (minuti)	9.7 ± 2.6

*I dati normalmente e non-normalmente distribuiti sono riportati rispettivamente come media ± sd e mediana (range).

** I cani sono stati classificati come adulti o anziani utilizzando due cut-offs per ciascuna categoria di taglia (cap. 4.2.2).

Tabella 5.1 Dati demografici e misurati per alcuni parametri selezionati dei 14 cani dello studio.

Il coefficiente di correlazione di Pearson tra il tempo di estubazione e la durata totale dell'infusione era 0.44 ($p = 0.111$), quello tra il tempo di estubazione e la velocità media di infusione era -0.37 ($p = 0.188$). Non è stata osservata alcuna correlazione tra il tempo di estubazione e il tipo di premedicazione utilizzato ($p = 0.693$). In tutti i casi eseguiti, non sono stati osservati episodi di depressione respiratoria, apnea, ipotensione né altri effetti collaterali avversi durante il periodo perianestetico.

5.3.2 RISULTATI: Valutazione delle performance del modello PK

La **Figura 5.2** riporta i grafici delle concentrazioni di propofol predette e misurate nel tempo relative ai casi con la performance migliore, quella mediana e quella peggiore tra i 14 totali dello studio, classificati sulla base dell'accuratezza (errore predittivo mediano assoluto) del modello calcolata per ciascuna TCI eseguita.

La **Figura 5.3**, invece, riassume le variazioni dell'errore predittivo (PE) del modello PK per la TCI testato nei 14 cani, in differenti momenti temporali durante e al termine dell'infusione di propofol. Per ciascun momento vengono riportati il range, 25° e 75° percentile e la mediana. Valori di PE negativi indicano che le Cp predette sono maggiori di quelle misurate, viceversa per valori di PE positivi.

I valori di PE calcolati verso le concentrazioni misurate mediante HPLC per ciascun campione eseguito sono riportati nel grafico in **Figura 5.4**, mentre il grafico in **Figura 5.5**, riporta allo stesso tempo le concentrazioni di propofol nel sangue previste dal modello PK sviluppato e quelle misurate mediante HPLC, per ciascun campionamento eseguito nei cani di questo studio. La linea continua (identity line) rappresenta la performance ideale di un modello PK per la TCI (PE = zero); maggiore è la distanza dei valori dalla linea maggiore è l'inaccuratezza.

I valori di MDPE, MDAPE, divergenza e *wobble* per ciascuna TCI eseguita sono riportati graficamente nelle **figure 5.6 e 5.7**. La linea continua rappresenta la mediana del gruppo.

Per i valori di PE sono stati individuati 15 *outliers* complessivi su un totale di 200 dati (7.5%). La mediana ed i range dei quattro indici di performance calcolati, con e senza l'inclusione degli *outliers*, sono riportati in **tabella 5.2**.

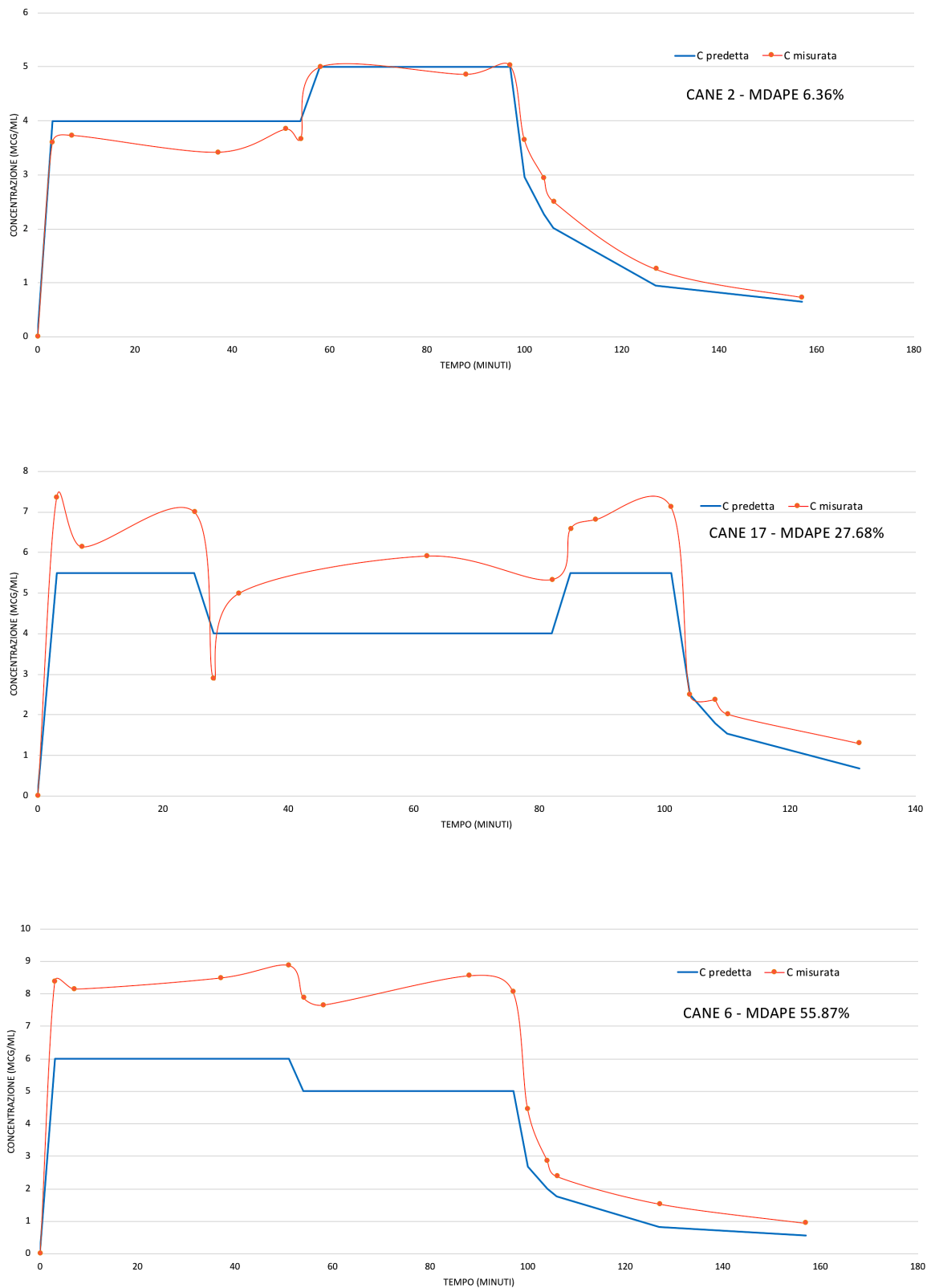


Figura 5.2 Grafici delle concentrazioni predette e misurate nel tempo relative ai casi con la performance predittiva migliore, mediana e peggiore tra i 14 totali dello studio.

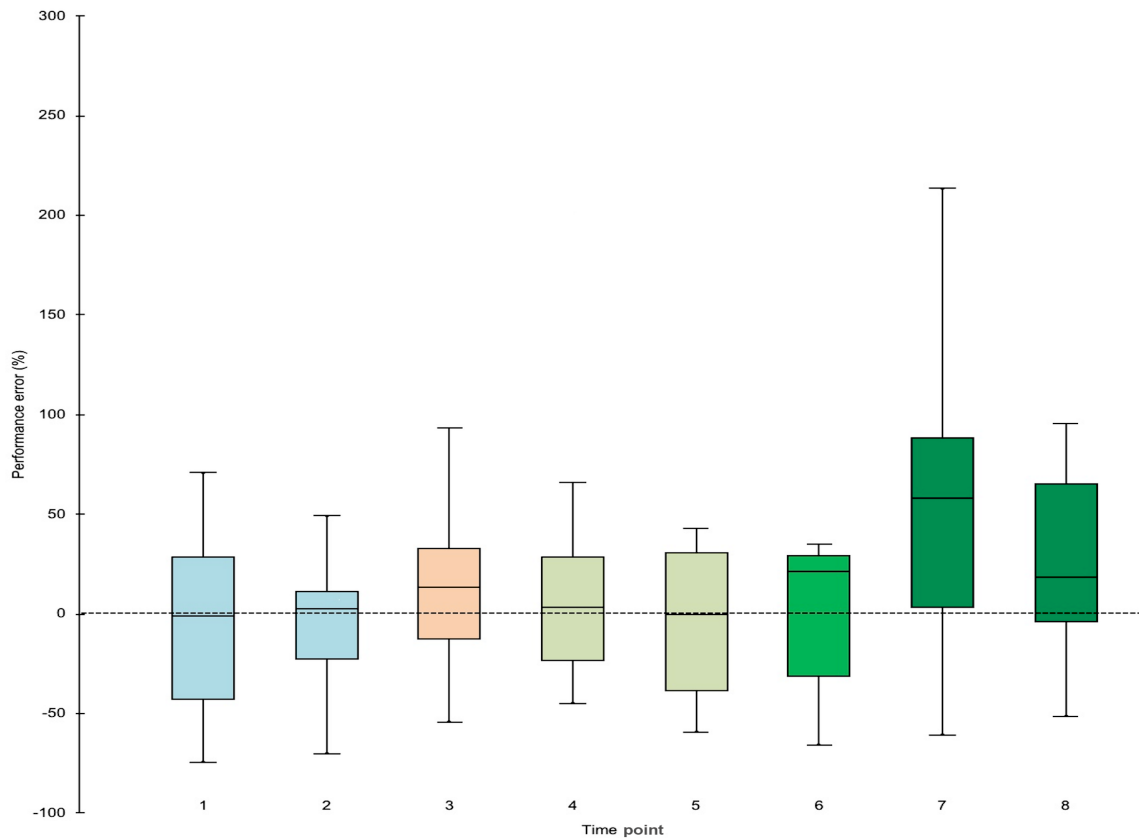


Figura 5.3 Grafico degli errori predittivi correlati a specifici momenti temporali. La linea orizzontale all'interno di ciascun box rappresenta la mediana, i limiti superiore ed inferiore il 75° e 25° percentile, i whiskers verticali che si estendono oltre i box il range. Periodi: 1= a 3 min di infusione (induzione); 2= a 7 min di infusione (induzione); 3= dai 7 min allo stop (mantenimento); 4= a 3 min dallo stop dell'infusione (fase di risveglio); 5= a 7 min dallo stop (fase di risveglio); 6= all'estubazione; 7= a 30 min dallo stop (paziente sveglio); 8= a 60 min dallo stop (paziente sveglio).

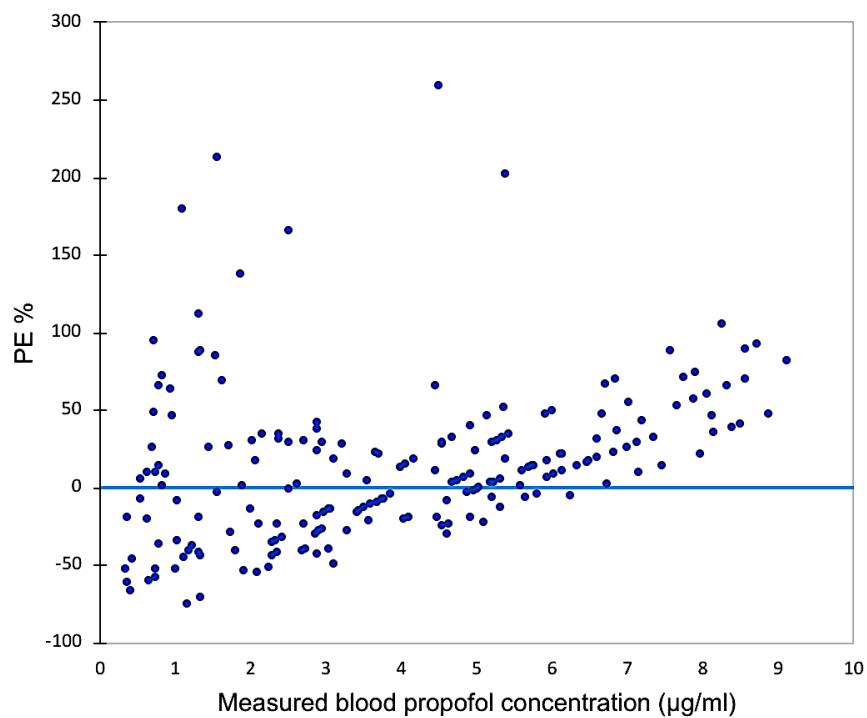


Figura 5.4 Errori predittivi (PE) per ciascun campionamento Vs le concentrazioni di propofol misurate nei campioni. La linea continua indica PE = zero.

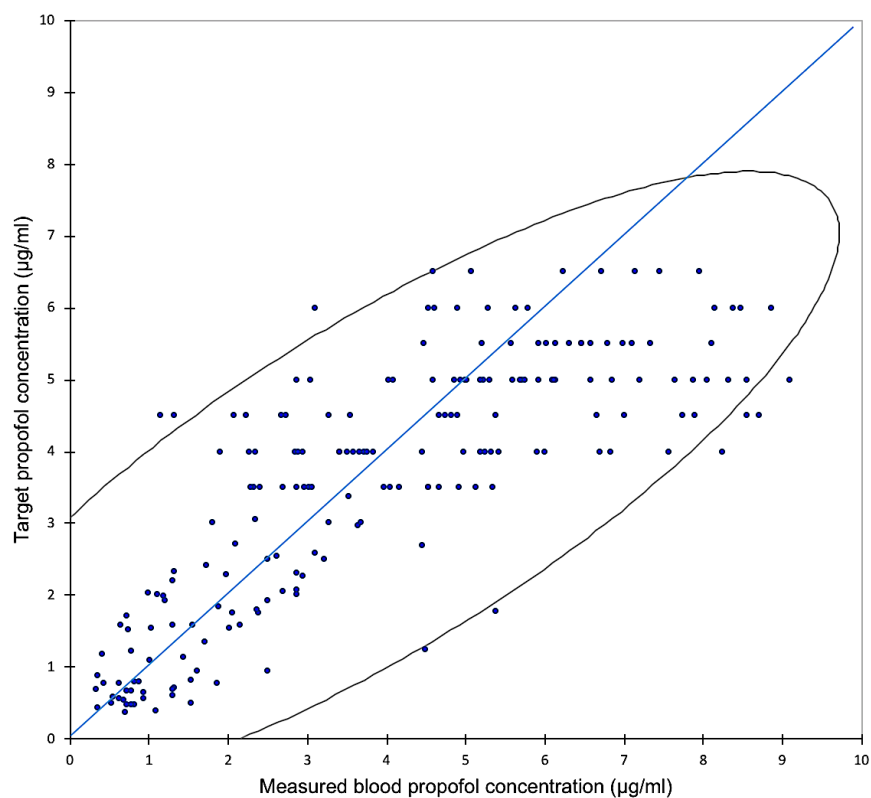


Figura 5.5 Concentrazioni di propofol predette dal modello PK per la TCI Vs le concentrazioni misurate mediante HPLC nel sangue. *Identity line* (linea continua) ed ellissi di confidenza (95% Cis).

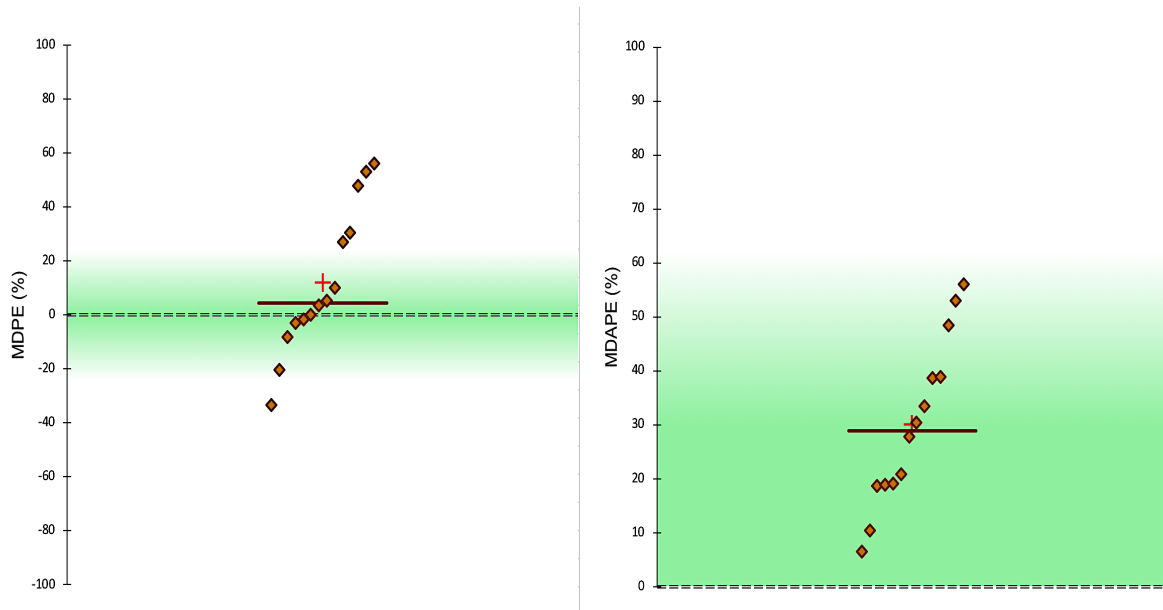


Figura 5.6 Errore predittivo mediano (MDPE) ed errore predittivo mediano assoluto (MDAPE) per ciascuna TCI eseguita. Mediana (linea continua) e media (croce) del gruppo. In verde il range ottimale ai fini della validazione clinica.

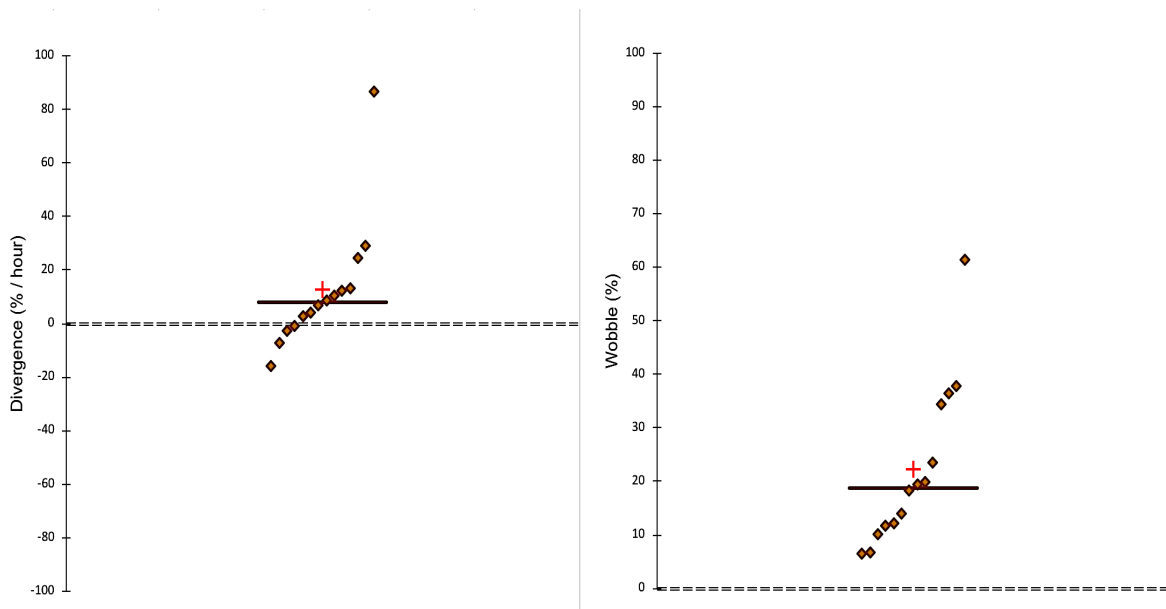


Figura 5.7 Divergenza e *wobble* per ciascuna TCI eseguita. Mediana (linea continua) e media (croce) del gruppo.

Index	<i>with outliers*</i>	<i>without outliers*</i>
MDPE (%)		
median	4.29	3.11
range	-33.44-55.87	-33.44-55.87
MDAPE (%)		
median	28.95	28.36
range	6.36-55.87	7.48-55.87
Divergence (%/hour)		
median	7.9	2.42
range	-15.73-86.84	-11.22-87.13
Wobble (%)		
median	18.8	15.28
range	6.61-61.26	3.21-66.13

Indici di performance calcolati a partire dagli errori predittivi percentuali (PE).

MDPE, errore predittivo mediano; MDAPE, errore predittivo mediano assoluto.

* PE outliers sono stati calcolati per ciascuna infusione utilizzando 1° e 3° quartile (Q1 e Q3) come segue: $PE \leq Q1 - 1.5 \cdot (Q3 - Q1)$ oppure $PE \geq Q3 + 1.5 \cdot (Q3 - Q1)$.

Tabella 5.2 Indici di performance mediani delle TCI di propofol eseguite in 14 cani con il modello farmacocinetico sviluppato.

5.4 DISCUSSIONE

La letteratura scientifica suggerisce che, per essere clinicamente accettabile (utilizzabile nei pazienti umani), un sistema TCI (quindi il suo modello PK) dovrebbe avere valori di MDPE non superiori al $\pm 10-20\%$ (vicini a zero quando ottimale) e di MDAPE nel range del 20-30%, con un variazione massima non superiore al 50-60% (Schüttler et al., 1988; Egan, 2003; Masui et al., 2010). In altri termini, poiché la TCI prevede di calibrare il target sulla risposta clinica dei pazienti, l'impiego clinico di un sistema TCI non risente significativamente della variabilità soggettiva se il modello PK rientra negli intervalli di *bias* e accuratezza riportati. Sulla base di questi criteri, il modello PK sviluppato in questo studio può considerarsi idoneo per la somministrazione computer-assistita di propofol (TCI) nel cane nell'ambito della routinaria pratica anestesologica.

Sebbene non ci siano dei range di accettabilità clinica di riferimento per divergenza e *wobble*, i nostri valori per questi due indici di performance sono coerenti con quelli dei modelli farmacocinetici utilizzati per la TCI di propofol nell'uomo (Glen and Servin, 2009). Le covariabili considerate dal modello PK finale sono il peso, il tipo di premedicazione (con acepromazina e metadone o dexmedetomidina e butorfanolo), il sesso, l'età e la taglia. Dalle ultime due venivano calcolate le covariabili derivate Age_size1 e Age_size2. La personalizzazione dei parametri PK in accordo con le covariabili dei cani e la possibilità di utilizzare premedicazioni differenti rendono questo sistema TCI utilizzabile in un'ampia finestra di pazienti/situazioni cliniche differenti.

Osservando la **Figura 5.2**, che illustra il caso migliore, un caso mediano e quello peggiore, in termini di performance predittiva del modello, si possono notare le differenze che intercorrono tra le concentrazioni di anestetico predette e quelle 'reali' misurate nel sangue in corso di TCI nei diversi pazienti. Come risaputo però, un certo grado di variabilità nella performance predittiva è normale ed inevitabilmente presente per effetto della variabilità biologica interindividuale e intraindividuale (per esempio come conseguenza di variazioni emodinamiche significative che possono insorgere durante un'anestesia). Inoltre, i modelli PK utilizzati per la TCI non sono che delle semplificazioni matematiche del complesso sistema che è l'organismo del paziente, pertanto non saranno mai capaci di prevedere con esattezza la cinetica dei farmaci infusi e quindi l'andamento preciso delle concentrazioni ematiche nel tempo. Osservando la stessa figura, è evidente come il nostro

modello abbia consentito al sistema d'infusione di seguire in parallelo tutte le variazioni della concentrazione target volute dall'anestesista, e come la direzione della variazione (aumento o diminuzione del target) non abbia influenzato i risultati (non ha intaccato le performance predittive del modello). Inoltre, i risultati indicano come, durante le fasi finali delle infusioni, gli errori non fossero aumentati con il passare del tempo, come supportato dal valore mediano della divergenza per il gruppo di studio molto basso (2.42 %/ora). Questo aspetto è importante soprattutto per validare l'utilizzo di un modello TCI per infusioni di lunga durata.

Com'è possibile osservare dal grafico degli errori predittivi correlati a specifici momenti temporali (**Figura 5.3**), nei primi minuti dopo l'inizio delle infusioni di propofol, come anche dopo lo stop (time points 1, 2, 4 e 5), il PE mediano risulta vicino allo zero, il che suggerisce una buona performance predittiva del modello per la TCI durante l'induzione e quando la concentrazione target desiderata viene modificata (aumentata o diminuita). Questa caratteristica è molto importante da un punto di vista clinico, poiché si traduce in un buon controllo del piano d'anestesia da parte dell'anestesista e in un minor rischio di effetti indesiderati potenzialmente associati a variazioni importanti della Cp dell'anestetico. Sempre osservando la **Figura 5.3**, possiamo notare come le performance siano peggiori nella fase avanzata di risveglio (30 e 60 minuti dallo stop dell'infusione di propofol), con una tendenza del modello a sottostimare le Cp di propofol reali (PE positivo). Tuttavia, in quella fase i cani erano per lo più vigili, e questo (e.g. per effetto di variazioni emodinamiche o del posizionamento) può aver influenzato considerevolmente la PK del propofol (quindi la capacità predittiva del modello) ed incrementato la variabilità interindividuale (compatibile con l'aumento di ampiezza dei whiskers verticali).

Esclusi pochi *outliers*, non si osservano grandi differenze nel range di variazione dei PE in relazione alle concentrazioni misurate (**Figura 5.4**), ed il modello PK, in generale, dimostra una accuratezza più che buona (**Figura 5.5**). Come si può osservare in particolare in **Figura 5.4**, l'errore predittivo tende ad essere maggiore alle concentrazioni di propofol più basse e a quelle più alte. Come abbiamo visto, il modello sembra essere meno performante nella fase di risveglio del paziente. In questa fase la Cp di propofol si trova generalmente a valori subipnotici e cala lentamente, questo potrebbe spiegare quindi il riscontro di PE più alti alle basse concentrazioni. La tendenza dei valori di PE ad essere più alti anche alle Cp di propofol più alte, invece, potrebbe essere dovuta a fenomeni di *mixing* incompleto

dell'anestetico nel sangue alle velocità di somministrazione maggiori (Swinhoe et al., 1998).

In questo studio, durante l'induzione ed il mantenimento dell'anestesia, non si sono osservati apnea, movimenti involontari o altri effetti avversi potenzialmente correlati all'anestetico e, come riportato in letteratura, di possibile insorgenza dopo somministrazione di propofol nei cani (Smith et al., 1993; Beths et al., 2001; Cattai et al., 2015). A questo risultato possono aver contribuito, l'impostazione di una velocità d'infusione massima sulla base del peso dell'animale (per ridurre il rischio di depressione respiratoria potenzialmente correlata ad infusioni troppo rapide), e la selezione del target per l'induzione in relazione al livello di sedazione del cane. I parametri cardiovascolari dei cani sottoposti a TCI di propofol in questo studio si sono mantenuti sempre entro i limiti di accettabilità clinica, ed il risveglio è stato per tutti i pazienti tranquillo e senza effetti indesiderati. Ciò non sorprende poiché in linea con quanto già osservato in precedenti studi sulla TIVA con propofol nel cane (Tsai et al., 2007; Iizuka et al., 2013; Caines et al., 2014).

In tutti i 14 casi l'intubazione è stata possibile al primo tentativo senza la necessità di variare il target scelto. Concentrazioni Target per l'induzione dell'anestesia comprese tra 4 e 6.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ di propofol hanno consentito l'intubazione agevole dei cani tra i 4 e i 6 minuti circa (5 ± 0.9 min) dall'inizio dell'infusione. Tuttavia, non avendo adottato in questo studio nessuna scala obiettiva per la valutazione del livello di sedazione e della qualità dell'induzione, ulteriori studi si rendono necessari per identificare in maniera accurata i target ottimali per raggiungere le condizioni d'intubazione ideali nei diversi pazienti. Se si considera la K_{e0} per il propofol di 0.723 min^{-1} proposta da Brás et al. (2009), i tempi di intubazione sono di poco successivi al tempo stimato di equilibrio tra la concentrazione di propofol nel sangue e nella biofase. Tempi simili sono stati riportati per l'induzione e intubazione dei gatti mediante TCI di propofol ($4,65 \pm 2,48$) (Cattai et al., 2016). Dei target più alti potrebbero consentire tempi d'intubazione più brevi ma aumentare il rischio di effetti avversi, quali depressione respiratoria, apnea e ipotensione.

La velocità media d'infusione del propofol utilizzata in questo studio per indurre e mantenere l'anestesia dei cani è stata di $0.3 \pm 0.1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ minuto}^{-1}$, che è coerente con quanto riportato da altri autori per il mantenimento di un piano adeguato d'anestesia, mediante infusione di propofol, in cani premedicati (come i nostri) con fenotiazine o alfa-2 agonisti (Hall and Chambers, 1987; Vainio, 1991; Beths et al., 2001). In questo studio, con

target compresi tra 3 e 6.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$, è stato possibile ottenere anestesie di qualità soddisfacente, inoltre, è stato possibile variare facilmente e rapidamente la profondità del piano anestetico secondo le necessità.

All'estubazione, la concentrazione media di propofol nel sangue predetta dal modello PK e quella misurata erano rispettivamente pari a 1.6 ± 0.5 e $1.7 \pm 0.7 \mu\text{g mL}^{-1}$, simili a quelle riportate da altri autori in precedenti studi (Nolan and Reid, 1993; Beths et al., 2001). Non sorprende il fatto che queste concentrazioni siano più basse di quelle necessarie per l'induzione dell'anestesia, è stato dimostrato, infatti, come la perdita di coscienza ed il risveglio avvengano a differenti concentrazioni di propofol nel sangue (Sepúlveda et al., 2018). I risultati di questo studio evidenziano tempi di estubazione accettabili dal punto di vista clinico, anche dopo infusioni di propofol fino a 143 minuti (9.7 ± 2.6 minuti). Nolan e Reid (1993) e Beths et al. (2001), dopo infusioni di propofol fino ad un massimo di 60 minuti in cani premedicati, con l'utilizzo di dosi simili a quelle di questo studio, riportano tempi medi per l'estubazione dei pazienti molto vicini ai nostri (rispettivamente 7.6 ± 1 e 8.5 ± 3.4 minuti). Sia la premedicazione con acepromazina e metadone che quella con dexmedetomidina e butorfanolo hanno probabilmente influenzato la durata del risveglio, ad ogni modo, non sono emerse differenze statisticamente significative tra i due gruppi rispetto ai tempi di estubazione. Allo stesso modo, non si sono trovate correlazioni significative tra i tempi di estubazione e la durata totale delle infusioni, e nemmeno tra questi e la velocità media delle infusioni. Potrebbe essere la conseguenza delle buone performance dimostrate dal sistema TCI di questo studio, considerato che una titolazione efficace delle concentrazioni di anestetico nel sangue (minimizzando il sovradosaggio ed evitando l'accumulo del farmaco) può consentire di ottenere risvegli più rapidi. Poiché in questo studio i tempi di risveglio non sono stati valutati completamente (e.g. il tempo di *standing* o di *walking*), ulteriori considerazioni o confronti con altri studi non possono essere fatti.

La principale limitazione della TCI è l'affidabilità del modello PK utilizzato dal *software* per predire la relazione tra dose somministrata e concentrazione del farmaco nel sangue (o nel sito effetto) (Levionnois, 2016). Ad esempio, parametri PK ottenuti da studi condotti su popolazioni di ridotte dimensioni e/o poco diversificate, rischiano di non essere sufficientemente accurati qualora utilizzati per la TCI in un contesto clinico differente, come potrebbe essere quello di cani pazienti con caratteristiche demografiche lontane da quelle

della popolazione sopracitata. E' importante, quindi, che un modello PK per la TCI sia il più possibile rappresentativo del paziente in quel momento sottoposto all'infusione, non solo per quanto riguarda le caratteristiche fisiche ma anche, ad esempio, per quel che concerne eventuali altri farmaci che gli vengono somministrati o la sua condizione clinica (e.g. presenza di stati patologici che interferiscono con il metabolismo o la distribuzione del farmaco, o stati fisiologici come la gravidanza). Tuttavia, l'obiettivo della TCI non è quello di predire esattamente la C_p ma piuttosto, di prevedere il suo sviluppo nel contesto di infusioni a velocità variabile e di diversa durata. Con la TCI è normale aspettarsi che un certo grado di variabilità intersoggettiva sia sempre presente e la variazione del target per raggiungere l'effetto desiderato rimane essenziale al fine di ottenere condizioni anestetiche ottimali e risvegli rapidi.

Considerato quanto detto, in caso di utilizzo del solo propofol (cani non premedicati quindi) oppure di utilizzo di una premedicazione differente da quelle di questo studio, le prestazioni del modello PK sviluppato potrebbero non essere ottimali. Nonostante la premedicazione possa influenzare la farmacocinetica del propofol è stato scelto volutamente di sviluppare e validare il modello in cani premedicati, poiché, specialmente in ambito clinico, questo offre una serie di indubbi vantaggi. La sedazione e (quando indicato) la somministrazione di analgesici, infatti, evita possibili reazioni pericolose da parte dell'animale, lo stress e l'eccitazione, e consente la manipolazione dei cani in sicurezza. L'eccitazione, a seguito del rilascio di catecolamine, potrebbe influenzare la distribuzione del propofol (e.g. aumentando la gittata cardiaca) determinando un incremento della variabilità farmacocinetica. La premedicazione, inoltre, consente in generale di ridurre le dosi di propofol necessarie per l'anestesia (*sparing effect*), e contribuisce a migliorare la qualità delle induzioni e dei risvegli (Smith et al., 1993; Sano et al., 2003; Cattai et al., 2015).

Le due tipologie di premedicazione adottate in questo studio potrebbero non essere considerate sicure per pazienti critici e per pazienti con disfunzioni cardiache. Per le stesse ragioni precedentemente discusse, il modello PK da noi sviluppato e validato potrebbe essere meno accurato se applicato a cani con caratteristiche che rientrano nei criteri di esclusione di questo studio, oppure, se impiegato durante procedure chirurgiche in associazione all'infusione di farmaci analgesici (e.g. il fentanyl).

5.5 CONCLUSIONI

Sin dalla sua introduzione in medicina umana la *target controlled infusion* si è evoluta da semplice strumento di ricerca a parte della routinaria pratica anestesiologicala in molti paesi del mondo (Absalom et al., 2016). Considerata la storia consolidata in termini di sicurezza di questa tecnica, e la sicurezza intrinseca delle infusioni di propofol accuratamente titolate, non è sbagliato pensare che il progresso in questo campo potrebbe portare ad un miglioramento della sicurezza e dell'efficacia dell'anestesia intravenosa anche in medicina veterinaria. L'accuratezza del modello farmacocinetico sviluppato con questo progetto di ricerca, valutata sulla base dei criteri descritti, dato anche il buon controllo sulla profondità dell'anestesia ottenuto, può considerarsi clinicamente accettabile per l'infusione di propofol nei cani nell'ambito della pratica anestesiologicala di routine.

L'utilizzo del propofol per indurre e mantenere l'anestesia generale come anche sedazioni di breve o lunga durata nei cani è riportato in letteratura da diversi autori, e, in particolare per quanto riguarda la stabilità emodinamica e la qualità dei risvegli, la TIVA con propofol viene descritta come vantaggiosa rispetto all'anestesia inalatoria (Deryck et al., 1996; Tsai et al., 2007; Tsai et al., 2008; Deryck et al., 2010; Iizuka et al., 2013; Caines et al., 2014). Inoltre, la TIVA con infusione di propofol consente di evitare l'inquinamento delle sale operatorie e quello ambientale dato dagli anestetici gassosi, le cui emissioni nell'atmosfera nel prossimo futuro potrebbero venire limitate o del tutto proibite in diversi paesi del mondo (Marx et al., 2001). In questo caso l'attenzione e le necessità dei veterinari si sposterebbero inevitabilmente verso la TIVA/TCI e le tecniche di anestesia loco-regionale.

Un altro aspetto importante da considerare è la possibilità di utilizzo della TCI di propofol (somministrato a dosi subanestetiche) per la sedazione degli animali, cosa che non è possibile facendo ricorso agli anestetici inalatori poiché richiederebbero l'intubazione del paziente (e quindi stati d'ipnosi più profondi). La sedazione mediante infusione di propofol, anche per lunghi periodi ed eventualmente in associazione a tecniche di anestesia loco-regionale, bene si presta a svariate procedure diagnostiche (e.g. studi radiografici o ecografici) o terapeutiche (e.g. trattamento di stati epilettici, medicazioni di varia natura, piccole chirurgie) della pratica clinica di routine. Evita inoltre di ricorrere alla somministrazione di dosi singole elevate o dosi ripetute, di farmaci sedativi o dello stesso

propofol, le quali potrebbero esitare in effetti collaterali poco controllabili e risvegli ritardati, specie quando non somministrate per via endovenosa.

In questo studio su cani premedicati con acepromazina e metadone oppure con dexmedetomidina e butorfanolo, concentrazioni target di propofol comprese tra 3 e 6.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ hanno permesso di ottenere induzioni e risvegli tranquilli e privi di eventi avversi, piani d'anestesia stabili e tempi di estubazione brevi, anche dopo infusioni superiori alle due ore. Ulteriori studi futuri potrebbero essere diretti ad apprezzare in modo più accurato i pro e i contro di questo sistema TCI nell'uso quotidiano.

Il solo propofol non è sufficiente a garantire un'adeguata abolizione della risposta neuroendocrina agli stimoli dolorifici chirurgici. In questi casi l'infusione concomitante alla TCI di propofol di un oppioide a breve durata d'azione (e.g. fentanyl, alfentanil, sufentanil o remifentanil) è una possibile opzione. Tuttavia sarà prima necessario studiarne l'effetto sulle prestazioni del modello, giacché la co-infusione potrebbe modificare significativamente il profilo farmacocinetico del propofol ed interferire quindi con la capacità predittiva del modello per la TCI. Inoltre, attraverso uno studio di farmacodinamica, sarebbe interessante investigare la K_{e0} (costante che descrive la relazione tra plasma e sito effetto) per il propofol somministrato nei cani utilizzando il presente modello PK. Una volta disponibile questo parametro (il quale introdurrebbe al modello un ipotetico quarto compartimento che si assume essere sincronizzato con gli effetti del propofol), infatti, sarebbe possibile utilizzare il modello per la TCI di propofol a controllo delle concentrazioni effettoriali anziché di quelle plasmatiche.

In conclusione, con il presente lavoro si sono acquisite nuove conoscenze che permettono di meglio comprendere la cinetica del propofol somministrato in infusione continua nel cane e come questa venga influenzata da alcune variabili, ed è stato sviluppato e testato il primo modello farmacocinetico per l'infusione assistita da computer di propofol nel cane ottimizzato da covariabili e utilizzabile in ambito clinico su un'ampia finestra di pazienti. Sono stati inoltre individuati dei valori target di riferimento per l'induzione e il mantenimento dell'anestesia con propofol, per il risveglio e l'estubazione.

BIBLIOGRAFIA

- Abe, K., Shimizu, T., Takashina, M., Shiozaki, H., Yoshiya, I., 1998. The effects of propofol, isoflurane, and sevoflurane on oxygenation and shunt fraction during one-lung ventilation. *Anesth. Analg.* 87, 1164–9.
- Absalom, A.R., Glen, J.B., Zwart, G.J.C., Schnider, T.W., Struys, M.M.R.F., 2016. Target-Controlled Infusion: A Mature Technology. *Anesth. Analg.* 122, 70–78.
- Absalom, A.R., Kenny, G., 2005. “Paedfusor” pharmacokinetic data set. *Br.J.Anaesth.* 95, 110.
- Absalom, A.R., Mani, V., De Smet, T., Struys, M.M.R.F., 2009. Pharmacokinetic models for propofol--defining and illuminating the devil in the detail. *Br. J. Anaesth.* 103, 26–37.
- Adachi, Y.U., Watanabe, K., Higuchi, H., Satoh, T., 2001. The determinants of propofol induction of anesthesia dose. *Anesth. Analg.* 92, 656–61.
- Alvis, J.M., Reves, J.G., Spain, J.A., Sheppard, L.C., 1985. Computer-assisted continuous infusion of the intravenous analgesic fentanyl during general anesthesia--an interactive system. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 32, 323–9.
- Andreoni, V., Lynne Hughes, J.M., 2009. Propofol and fentanyl infusions in dogs of various breeds undergoing surgery. *Vet. Anaesth. Analg.* 36, 523–31.
- Aoki, M., Wakuno, A., Kushiro, A., Mae, N., Kakizaki, M., Nagata, S.-I., Ohta, M., 2017. Evaluation of total intravenous anesthesia with propofol-guaifenesin-medetomidine and alfaxalone-guaifenesin-medetomidine in Thoroughbred horses undergoing castration. *J. Vet. Med. Sci.* 79, 2011–2018.
- Bailey, J.M., Shafer, S.L., 1991. A simple analytical solution to the three-compartment pharmacokinetic model suitable for computer-controlled infusion pumps. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 38, 522–5.
- Beier, S.L., Mattoso, C.R.S., Aguiar, A.J.A., Vianna, P.T.G., Massone, F., 2015. Hemodynamic effects of target-controlled infusion of propofol alone or in combination with a constant-rate infusion of remifentanyl in dogs. *Can. J. Vet. Res.* 79, 309–15.
- Beths, T., Reid, J., Monteiro, A.M., Nolan, A.M., Glen, J.B., 2001. Evaluation and optimisation of a targetcontrolled infusion system for administering propofol to dogs as part of a total intravenous anaesthetic technique during dental surgery. *Vet. Rec.* 148, 198–203.
- Bienert, A., Wiczling, P., Grześkowiak, E., Cywiński, J.B.J., Kusza, K., 2012. Potential pitfalls of propofol target controlled infusion delivery related to its pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacol. Rep.* 64, 782–95.
- Billard, V., 2015. Pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship of anesthetic drugs: from modeling to clinical use. *F1000Research* 4.

- Bley, C.R., 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, 1347–53.
- Bon, C., Toutain, P.L., Concordet, D., Gehring, R., Martin-Jimenez, T., Smith, J., Pelligand, L., Martinez, M., Whitem, T., Riviere, J.E., Mochel, J.P., 2018. Mathematical modeling and simulation in animal health. Part III: Using nonlinear mixed-effects to characterize and quantify variability in drug pharmacokinetics. *J.Vet.Pharmacol.Ther.* 41, 171–183.
- Borgeat, A., Wilder-Smith, O.H., Suter, P.M., 1994. The nonhypnotic therapeutic applications of propofol. *Anesthesiology* 80, 642–56.
- Boudreau, A.E., Bersenas, A.M.E., Kerr, C.L., Holowaychuk, M.K., Johnson, R.J., 2012. A comparison of 3 anesthetic protocols for 24 hours of mechanical ventilation in cats. *J. Vet. Emerg. Crit. Care (San Antonio)*. 22, 239–52.
- Brás, S., Bressan, N., Ribeiro, L., Ferreira, D.A., Antunes, L., Nunes, C.S., 2009. A step towards effect-site target-controlled infusion with propofol in dogs: A ke0 for propofol. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 32, 182–188.
- Buggy, D.J., Nicol, B., Rowbotham, D.J., Lambert, D.G., 2000. Effects of intravenous anesthetic agents on glutamate release: a role for GABAA receptor-mediated inhibition. *Anesthesiology* 92, 1067–73.
- Caines, D., Sinclair, M., Valverde, A., Dyson, D., Gaitero, L., Wood, D., 2014. Comparison of isoflurane and propofol for maintenance of anesthesia in dogs with intracranial disease undergoing magnetic resonance imaging. *Vet. Anaesth. Analg.* 41, 468–79.
- Campagna, I., Schwarz, A., Keller, S., Bettschart-Wolfensberger, R., Mosing, M., 2015. Comparison of the effects of propofol or alfaxalone for anaesthesia induction and maintenance on respiration in cats. *Vet. Anaesth. Analg.* 42, 484–92.
- Campoy, L., Martin-Flores, M., Ludders, J.W., Gleed, R.D., 2012. Procedural sedation combined with locoregional anesthesia for orthopedic surgery of the pelvic limb in 10 dogs: case series. *Vet. Anaesth. Analg.* 39, 436–40.
- Cattai, A., Pilla, T., Cagnardi, P., Zonca, A., Franci, P., 2016. Evaluation and optimisation of propofol pharmacokinetic parameters in cats for target-controlled infusion. *Vet. Rec.* 178, 503.
- Cattai, A., Rabozzi, R., Ferasin, H., Isola, M., Franci, P., 2018. Haemodynamic changes during propofol induction in dogs: new findings and approach of monitoring. *BMC Vet. Res.* 14, 282. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1608-8>
- Cattai, A., Rabozzi, R., Natale, V., Franci, P., 2015. The incidence of spontaneous movements (myoclonus) in dogs undergoing total intravenous anaesthesia with propofol. *Vet. Anaesth. Analg.* 42, 93–8.

- Chaudhri, S., White, M., Kenny, G.N., 1992. Induction of anaesthesia with propofol using a target-controlled infusion system. *Anaesthesia* 47, 551–3.
- Chen, Y.-Z., Zhu, S.-M., He, H.-L., Xu, J.-H., Huang, S.-Q., Chen, Q.-L., 2006. Do the lungs contribute to propofol elimination in patients during orthotopic liver transplantation without veno-venous bypass? *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int* 5, 511–4.
- Cheng, S.S., Yeh, J., Flood, P., 2008. Anesthesia matters: patients anesthetized with propofol have less postoperative pain than those anesthetized with isoflurane. *Anesth. Analg.* 106, 264–9.
- Claassen, J., Hirsch, L.J., Emerson, R.G., Mayer, S.A., 2002. Treatment of refractory status epilepticus with pentobarbital, propofol, or midazolam: a systematic review. *Epilepsia* 43, 146–53.
- Claeys, M.A., Gepts, E., Camu, F., 1988. Haemodynamic changes during anaesthesia induced and maintained with propofol. *Br. J. Anaesth.* 60, 3–9.
- Cleale, R.M., Muir, W.W., Waselau, A.-C., Lehmann, M.W., Amodie, D.M., 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, 436–45.
- Cockshott, I.D., 1985. Propofol ('Diprivan') pharmacokinetics and metabolism--an overview. *Postgrad. Med. J.* 61 Suppl 3, 45–50.
- Cockshott, I.D., Douglas, E.J., Plummer, G.F., Simons, P.J., 1992. The pharmacokinetics of propofol in laboratory animals. *Xenobiotica* 22, 369–375.
- Coetzee, J.F., Glen, J.B., Wium, C.A., Boshoff, L., 1995. Pharmacokinetic model selection for target controlled infusions of propofol. Assessment of three parameter sets. *Anesthesiology* 82, 1328–45.
- Cortínez, L.I., De la Fuente, N., Eleveld, D.J., Oliveros, A., Crovari, F., Sepulveda, P., Ibacache, M., Solari, S., 2014. Performance of propofol target-controlled infusion models in the obese: pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis. *Anesth. Analg.* 119, 302–10.
- Crowther, J., Hrazdil, J., Jolly, D.T., Galbraith, J.C., Greacen, M., Grace, M., 1996. Growth of microorganisms in propofol, thiopental, and a 1:1 mixture of propofol and thiopental. *Anesth. Analg.* 82, 475–478.
- Davies, C., 1991. Excitatory phenomena following the use of propofol in dogs. *J. Vet. Anaesth.* 18, 48–51.
- Dawidowicz, A.L., Fornal, E., Mardarowicz, M., Fijalkowska, A., 2000. The role of human lungs in the biotransformation of propofol. *Anesthesiology* 93, 992–7.
- De Vito, A., Agnoletti, V., Zani, G., Corso, R.M., D'Agostino, G., Firinu, E., Marchi, C., Hsu, Y.-S., Maitan, S., Vicini, C., 2017. The importance of drug-induced sedation endoscopy

- (D.I.S.E.) techniques in surgical decision making: conventional versus target controlled infusion techniques—a prospective randomized controlled study and a retrospective surgical outcomes analysis. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* 274, 2307–2317.
- Deryck, Y.L.J.M., Brimiouille, S., Maggiorini, M., de Canniere, D., Naeije, R., 1996. Systemic Vascular Effects of Isoflurane Versus Propofol Anesthesia in Dogs. *Anesth. Analg.* 83, 958–964.
- Deryck, Y.L.J.M., Fonck, K., DE Baerdemaeker, L., Naeije, R., Brimiouille, S., 2010. Differential effects of sevoflurane and propofol anesthesia on left ventricular-arterial coupling in dogs. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 54, 979–86.
- Dong, X.-P., Xu, T.-L., 2002. The actions of propofol on gamma-aminobutyric acid-A and glycine receptors in acutely dissociated spinal dorsal horn neurons of the rat. *Anesth. Analg.* 95, 907–14, table of contents.
- Egan, T.D., 2003. Target-controlled drug delivery: progress toward an intravenous “vaporizer” and automated anesthetic administration. *Anesthesiology* 99, 1214–9.
- Eikaas, H., Raeder, J., 2009. Total intravenous anaesthesia techniques for ambulatory surgery. *Curr. Opin. Anaesthesiol.* 22, 725–9.
- Eleveld, D.J., Colin, P., Absalom, A.R., Struys, M.M.R.F., 2018. Pharmacokinetic-pharmacodynamic model for propofol for broad application in anaesthesia and sedation. *Br. J. Anaesth.* 120, 942–959.
- Eleveld, D.J., Proost, J.H., Cortínez, L.I., Absalom, A.R., Struys, M.M.R.F., 2014. A general purpose pharmacokinetic model for propofol. *Anesth. Analg.* 118, 1221–37.
- Engbers, F.H., 2003. Basic pharmacokinetic principles for intravenous anaesthesia, in: Vuyk, J., Schraag, S. (Eds.), *Advances in Modelling and Clinical Application of Intravenous Anaesthesia*. Kluwer Academic/Plenum Publisher.
- Franci, P., Dotto, G., Cattai, A., Pasotto, D., 2015. Lethal septic shock after dental scaling in a healthy dog due to *Ochrobactrum anthropi*-contaminated propofol. *J. Small Anim. Pract.* 56, 345–7.
- Fujinaka, W., Shimizu, J., Iribe, G., Imaoka, T., Oshima, Y., Kiyooka, T., Morita, K., Mohri, S., 2012. Effects of propofol on left ventricular mechanoenergetics in the excised cross-circulated canine heart. *Acta Med. Okayama* 66, 435–42.
- Gepts, E., 1998. Pharmacokinetic concepts for TCI anaesthesia. *Anaesthesia* 53, 4–12.
- Gimenes, A.M., de Araujo Aguiar, A.J., Perri, S.H.V., de Paula Nogueira, G., 2011a. Effect of intravenous propofol and remifentanil on heart rate, blood pressure and nociceptive response in acepromazine premedicated dogs. *Vet. Anaesth. Analg.* 38, 54–62.
- Gimenes, A.M., de Araujo Aguiar, A.J., Perri, S.H.V., de Paula Nogueira, G., 2011b. Effect of intravenous propofol and remifentanil on heart rate, blood pressure and nociceptive

- response in acepromazine premedicated dogs. *Vet. Anaesth. Analg.* 38, 54–62.
- Glass, P.S., Glen, J.B., Kenny, G.N., Schüttler, J., Shafer, S.L., 1997. Nomenclature for computer-assisted infusion devices. *Anesthesiology* 86, 1430–1.
- Glen, J.B., 1998. The development of “Diprifusor”: a TCI system for propofol. *Anaesthesia* 53 Suppl 1, 13–21.
- Glen, J.B., Hunter, S.C., 1984. Pharmacology of an emulsion formulation of ICI 35868. *Br. J. Anaesth.* 56, 617–626.
- Glen, J.B., Servin, F., 2009. Evaluation of the predictive performance of four pharmacokinetic models for propofol. *Br. J. Anaesth.* 102, 626–32.
- Glowaski, M.M., Wetmore, L.A., 1999. Propofol: Application in veterinary sedation and anesthesia. *Clin. Tech. Small Anim. Pract.* 14, 1–9.
- Goodchild, C.S., Serrao, J.M., 1989. Cardiovascular effects of propofol in the anaesthetized dog. *Br. J. Anaesth.* 63, 87–92.
- Green, S.M., Krauss, B.S., 2016. Target-Controlled Infusions Could Improve the Safety and Efficacy of Emergency Department Propofol Sedation. *Anesth. Analg.* 122, 283–4.
- Halford, F.J., 1943. A Critique of Intravenous Anesthesia in War Surgery. *J. Am. Soc. Anesthesiol.* 4, 67–69.
- Hall, L.W., Chambers, J.P., 1987. A clinical trial of propofol infusion anaesthesia in dogs. *J. Small Anim. Pract.* 28, 623–637.
- Hall, L.W., Lagerweij, E., Nolan, A.M., Sear, J.W., 1994. Effect of medetomidine on the pharmacokinetics of propofol in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 55, 116–20.
- Hay Kraus, B.L., Greenblatt, D.J., Venkatakrishnan, K., Court, M.H., 2000. Evidence for propofol hydroxylation by cytochrome P4502B11 in canine liver microsomes: breed and gender differences. *Xenobiotica.* 30, 575–88.
- 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, 176–82.
- Hirota, K., Sato, T., Hashimoto, Y., Hashiba, E., Kudo, T., Ishihara, H., Matsuki, A., 1999. Relaxant effect of propofol on the airway in dogs. *Br. J. Anaesth.* 83, 292–5.
- Holford, N.H.G., Sheiner, L.B., 1981. Understanding the dose-effect relationship: clinical application of pharmacokinetic-pharmacodynamic models. *Clin. Pharmacokinet.* 6, 429–453.
- Hughes, J.M., Nolan, A.M., 1999. Total intravenous anesthesia in greyhounds: pharmacokinetics of propofol and fentanyl—a preliminary study. *Vet. Surg.* 28, 513–24.
- Hughes, M.A., Glass, P.S., Jacobs, J.R., 1992. Context-sensitive half-time in

- multicompartment pharmacokinetic models for intravenous anesthetic drugs. *Anesthesiology* 76, 334–41.
- Iizuka, T., Kamata, M., Yanagawa, M., Nishimura, R., 2013. Incidence of intraoperative hypotension during isoflurane-fentanyl and propofol-fentanyl anaesthesia in dogs. *Vet. J.* 198, 289–91.
- Ikeno, S., Akazawa, S., Shimizu, R., Nakaigawa, Y., Ishii, R., Inoue, S., Satoh, M., 1999. Propofol does not affect the canine cardiac conduction system under autonomic blockade. *Can. J. Anaesth.* 46, 148–53.
- Ishizuka, T., Tamura, J., Nagaro, T., Sudo, K., Itami, T., Umar, M.A., Miyoshi, K., Sano, T., Yamashita, K., 2014. Effects of intermittent positive pressure ventilation on cardiopulmonary function in horses anesthetized with total intravenous anesthesia using combination of medetomidine, lidocaine, butorphanol and propofol (MLBP-TIVA). *J. Vet. Med. Sci.* 76, 1577–82.
- Ismail, E.F., Kim, S.J., Salem, M.R., Crystal, G.J., 1992. Direct effects of propofol on myocardial contractility in in situ canine hearts. *Anesthesiology* 77, 964–72.
- Jacobs, J.R., 1990. Algorithm for optimal linear model-based control with application to pharmacokinetic model-driven drug delivery. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 37, 107–9.
- Jacobs, J.R., 1988. Analytical solution to the three-compartment pharmacokinetic model. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 35, 763–5.
- Jones, P., Chase, K., Martin, A., Davern, P., Ostrander, E.A., Lark, K.G., 2008. Single-nucleotide-polymorphism-based association mapping of dog stereotypes. *Genetics* 179, 1033–44.
- Joubert, K.E., Keller, N., Du Plessis, C.J., 2004. A retrospective case series of computer-controlled total intravenous anaesthesia in dogs presented for neurosurgery. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 75, 85–9.
- Kam, P.C.A., Cardone, D., 2007. Propofol infusion syndrome. *Anaesthesia* 62, 690–701.
- Kaneko, K., Koyanagi, Y., Oi, Y., Kobayashi, M., 2016. Propofol-induced spike firing suppression is more pronounced in pyramidal neurons than in fast-spiking neurons in the rat insular cortex. *Neuroscience* 339, 548–560.
- Kanto, J., Gepts, E., 1989. Pharmacokinetic implications for the clinical use of propofol. *Clin. Pharmacokinet.* 17, 308–26.
- Karan, S.B., Bailey, P.L., 2004. Update and review of moderate and deep sedation. *Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am.* 14, 289–312.
- Kataria, B.K., Ved, S.A., Nicodemus, H.F., Hoy, G.R., Lea, D., Dubois, M.Y., Mandema, J.W., Shafer, S.L., 1994. The pharmacokinetics of propofol in children using three different data analysis approaches. *Anesthesiology* 80, 104–22.

- Kazama, T., Kurita, T., Morita, K., Nakata, J., Sato, S., 2002. Influence of hemorrhage on propofol pseudo-steady state concentration. *Anesthesiology* 97, 1156–61.
- Keegan, R.D., Greene, S.A., 1993. Cardiovascular effects of a continuous two-hour propofol infusion in dogs comparison with isoflurane anesthesia. *Vet. Surg.* 22, 537–543.
- Kerz, T., Hennes, H.J., Fève, A., Decq, P., Filipetti, P., Duvaldestin, P., 2001. Effects of propofol on H-reflex in humans. *Anesthesiology* 94, 32–7.
- Kirvelä, M., Olkkola, K.T., Rosenberg, P.H., 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, 178–82.
- Kitamura, A., Marszalec, W., Yeh, J.Z., Narahashi, T., 2003. Effects of halothane and propofol on excitatory and inhibitory synaptic transmission in rat cortical neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 304, 162–71.
- Kobayashi, M., Oi, Y., 2017. Actions of Propofol on Neurons in the Cerebral Cortex. *J. Nippon Med. Sch.* 84, 165–169.
- Kuipers, J.A., Boer, F., Olieman, W., Burm, A.G., Bovill, J.G., 1999. First-pass lung uptake and pulmonary clearance of propofol: assessment with a recirculatory indocyanine green pharmacokinetic model. *Anesthesiology* 91, 1780–7.
- Laflamme, D., 1997. Development and validation of a body condition score system for dogs. *Canine Pract.* 22, 10–15.
- Lee, S.-H., Park, H.-W., Kim, M.-J., Noh, M.-H., Yoon, H.-S., Choi, B.-M., Lee, E.-K., Noh, G.-J., 2012. External validation of pharmacokinetic and pharmacodynamic models of microemulsion and long-chain triglyceride emulsion propofol in beagle dogs. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 35, 329–41.
- Lee, S.H., Ghim, J.L., Song, M.H., Choi, H.G., Choi, B.M., Lee, H.M., Lee, E.K., Roh, Y.J., Noh, G.J., 2009. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of a new reformulated microemulsion and the long-chain triglyceride emulsion of propofol in beagle dogs. *Br. J. Pharmacol.*
- Lerche, P., 2013. Total intravenous anesthesia in horses. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 29, 123–9.
- Lerman, J., Jöhr, M., 2009. Inhalational anesthesia vs total intravenous anesthesia (TIVA) for pediatric anesthesia. *Paediatr. Anaesth.* 19, 521–34.
- Leslie, K., Clavisi, O., Hargrove, J., 2008. Target-controlled infusion versus manually-controlled infusion of propofol for general anaesthesia or sedation in adults. *Anesth. Analg.* 107, 2089.
- Levionnois, O.L., 2016. Target-controlled infusion in small animals: improving anaesthetic safety. *Vet. Rec.* 178, 501–2.

- Li Volti, G., Avola, R., Tibullo, D., 2017. Editorial - Propofol as an intraoperative strategy for organ protection. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 21, 3980–3981.
- Liehmman, 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, 158–68.
- Lin, C.C., Shyr, M.H., Tan, P.P., Chien, C.S., Pan, S.L., Wang, C.C., Chiu, C.T., Yang, C.M., 1999. Mechanisms underlying the inhibitory effect of propofol on the contraction of canine airway smooth muscle. *Anesthesiology* 91, 750–9.
- Lin, O.S., 2017. Sedation for routine gastrointestinal endoscopic procedures: a review on efficacy, safety, efficiency, cost and satisfaction. *Intest. Res.* 15, 456–466.
- Lindbom L, Pihlgren P, Jonsson EN (2005) PsN-Toolkit--a collection of computer intensive statistical methods for non-linear mixed effect modeling using NONMEM. *Comput Methods Programs Biomed* 79, 241-257.
- Lingamaneni, R., Hemmings, H.C., 2003. Differential interaction of anaesthetics and antiepileptic drugs with neuronal Na⁺ channels, Ca²⁺ channels, and GABA(A) receptors. *Br. J. Anaesth.* 90, 199–211.
- Liu, N., Rinehart, J., 2016. Closed-Loop Propofol Administration: Routine Care or a Research Tool? What Impact in the Future? *Anesth. Analg.* 122, 4–6.
- Maitre, P.O., Shafer, S.L., 1990. A simple pocket calculator approach to predict anesthetic drug concentrations from pharmacokinetic data. *Anesthesiology* 73, 332–6.
- Mandsager, R.E., Clarke, C.R., Shawley, R. V, Hague, C.M., 1995. Effects of chloramphenicol on infusion pharmacokinetics of propofol in greyhounds. *Am. J. Vet. Res.* 56, 95–9.
- Mani, V., Morton, N.S., 2010. Overview of total intravenous anesthesia in children. *Paediatr. Anaesth.* 20, 211–22.
- Marik, P., 2004. Propofol: Therapeutic Indications and Side-Effects. *Curr. Pharm. Des.* 10, 3639–3649.
- Marik, P.E., Varon, J., Trask, T., 2002. Management of head trauma. *Chest* 122, 699–711.
- Marsh, B., White, M., Morton, N., Kenny, G.N., 1991. Pharmacokinetic model driven infusion of propofol in children. *Br. J. Anaesth.* 67, 41–8.
- Martella, G., De Persis, C., Bonsi, P., Natoli, S., Cuomo, D., Bernardi, G., Calabresi, P., Pisani, A., 2005. Inhibition of persistent sodium current fraction and voltage-gated L-type calcium current by propofol in cortical neurons: implications for its antiepileptic activity. *Epilepsia* 46, 624–35.
- Marx, T., Schmidt, M., Schirmer, U., Reinelt, H., 2001. Pollution of the environment and the workplace with anesthetic gases. *Int. Anesthesiol. Clin.* 39, 15–27.

- Masui, K., Upton, R.N., Doufas, A.G., Coetzee, J.F., Kazama, T., Mortier, E.P., Struys, M.M.R.F., 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, 368–79.
- Matot, I., Neely, C.F., Katz, R.Y., Neufeld, G.R., 1993. Pulmonary uptake of propofol in cats. Effect of fentanyl and halothane. *Anesthesiology* 78, 1157–65.
- Mazoit, J.X., Samii, K., 1999. Binding of propofol to blood components: implications for pharmacokinetics and for pharmacodynamics. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 47, 35–42.
- McKeage, K., Perry, C.M., 2003. Propofol: a review of its use in intensive care sedation of adults. *CNS Drugs* 17, 235–72.
- Mendes, G.M., Selmi, A.L., 2003. Use of a combination of propofol and fentanyl, alfentanil, or sufentanil for total intravenous anesthesia in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 223, 1608–13.
- Miller, D.R., 1994. Intravenous infusion anaesthesia and delivery devices. *Can. J. Anaesth.* 41, 639-51; quiz 651–2.
- Minto, C.F., Schnider, T.W., 2008. Contributions of PK/PD modeling to intravenous anesthesia. *Clin. Pharmacol. Ther.* 84, 27–38.
- Minto, C.F., Schnider, T.W., Gregg, K.M., Henthorn, T.K., Shafer, S.L., 2003. Using the time of maximum effect site concentration to combine pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Anesthesiology* 99, 324–33.
- Morgan, M., 1983. Total intravenous anaesthesia. *Anaesthesia* 38 Suppl, 1–9.
- Murrell, J.C., van Notten, R.W., Hellebrekers, L.J., 2005. Clinical investigation of remifentanyl and propofol for the total intravenous anaesthesia of dogs. *Vet. Rec.* 156, 804–8.
- Murugaiah, K.D., Hemmings, H.C., 1998. Effects of intravenous general anesthetics on [3H]GABA release from rat cortical synaptosomes. *Anesthesiology* 89, 919–28.
- Musk, G.C., Pang, D.S.J., Beths, T., Flaherty, D.A., 2005. Target-controlled infusion of propofol in dogs--evaluation of four targets for induction of anaesthesia. *Vet. Rec.* 157, 766–70.
- Nakaigawa, Y., Akazawa, S., Shimizu, R., Ishii, R., Yamato, R., 1995. Effects of graded infusion rates of propofol on cardiovascular haemodynamics, coronary circulation and myocardial metabolism in dogs. *Br. J. Anaesth.* 75, 616–21.
- Nathan, N., Debord, J., Narcisse, F., Dupuis, J.L., 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, 77–85.

- Newson, C., Joshi, G.P., Victory, R., White, P.F., 1995. Comparison of propofol administration techniques for sedation during monitored anesthesia care. *Anesth. Analg.* 81, 486–91.
- Nieuwenhuijs, D., Sarton, E., Teppema, L.J., Kruijt, E., Olievier, I., van Kleef, J., Dahan, A., 2001. Respiratory sites of action of propofol: absence of depression of peripheral chemoreflex loop by low-dose propofol. *Anesthesiology* 95, 889–95.
- Nolan, A., Reid, J., 1993. Pharmacokinetics of propofol administered by infusion in dogs undergoing surgery. *Br. J. Anaesth.* 70, 546–51.
- Nolan, A.M., Reid, J., Grant, S., 1993. The effects of halothane and nitrous oxide on the pharmacokinetics of propofol in dogs. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 16, 335–42.
- 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, 784–8.
- Orser, B.A., Bertlik, M., Wang, L.Y., MacDonald, J.F., 1995. Inhibition by propofol (2,6 diisopropylphenol) of the N-methyl-D-aspartate subtype of glutamate receptor in cultured hippocampal neurones. *Br. J. Pharmacol.* 116, 1761–8.
- Ortega, M., Cruz, I., 2011. Evaluation of a constant rate infusion of lidocaine for balanced anesthesia in dogs undergoing surgery. *Can. Vet. J. = La Rev. Vet. Can.* 52, 856–60.
- Padilha, S.T., Steagall, P.V.M., Monteiro, B.P., Kahvegian, M.A.P., Ubukata, R., Rodrigues, E.O., Rosa, A.L., Aguiar, A.J.A., 2011a. A clinical comparison of remifentanyl or alfentanil in propofol-anesthetized cats undergoing ovariohysterectomy. *J. Feline Med. Surg.* 13, 738–43.
- Padilha, S.T., Steagall, P.V.M., Monteiro, B.P., Kahvegian, M.A.P., Ubukata, R., Rodrigues, E.O., Rosa, A.L., Aguiar, A.J.A., 2011b. A clinical comparison of remifentanyl or alfentanil in propofol-anesthetized cats undergoing ovariohysterectomy. *J. Feline Med. Surg.* 13, 738–43.
- Pagel, P.S., Hettrick, D.A., Kersten, J.R., Lowe, D., Warltier, D.C., 1998. Cardiovascular effects of propofol in dogs with dilated cardiomyopathy. *Anesthesiology* 88, 180–9.
- Ponte, J., Sadler, C.L., 1989. Effect of thiopentone, etomidate and propofol on carotid body chemoreceptor activity in the rabbit and the cat. *Br. J. Anaesth.* 62, 41–5.
- Raisis, A.L., Leece, E.A., Platt, S.R., Adams, V.J., Corletto, F., Brearley, J., 2007. Evaluation of an anaesthetic technique used in dogs undergoing craniectomy for tumour resection. *Vet. Anaesth. Analg.* 34, 171–80.
- Raouf, A.A., van Obbergh, L.J., de Ville de Goyet, J., Verbeeck, R.K., 1996. Extrahepatic glucuronidation of propofol in man: possible contribution of gut wall and kidney. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 50, 91–6.
- Ravussin, P., Guinard, J.P., Ralley, F., Thorin, D., 1988. Effect of propofol on cerebrospinal

- fluid pressure and cerebral perfusion pressure in patients undergoing craniotomy. *Anaesthesia* 43 Suppl, 37–41.
- Reed, R.A., Seddighi, M.R., Odoi, A., Cox, S.K., Egger, C.M., Doherty, T.J., 2015. Effect of ketamine on the minimum infusion rate of propofol needed to prevent motor movement in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 76, 1022–30.
- Reekers, M., Boer, F., Vuyk, J., 2003. Basic concepts of recirculatory pharmacokinetic modelling, in: Vuyk, J., Schraag, S. (Eds.), *Advances in Modelling and Clinical Application of Intravenous Anaesthesia*. Kluwer Academic/Plenum Publisher.
- Reid, J., Nolan, A.M., 1996. Pharmacokinetics of propofol as an induction agent in geriatric dogs. *Res. Vet. Sci.* 61, 169–71.
- Reid, J., Nolan, A.M., 1993. Pharmacokinetics of propofol in dogs premedicated with acepromazine and maintained with halothane and nitrous oxide. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 16, 501–5.
- Ribeiro, L., Ferreira, D., Brás, S., Gonzalo-Orden, J., Antunes, L., 2012. Correlation between clinical signs of depth of anaesthesia and cerebral state index responses in dogs with different target-controlled infusions of propofol. *Vet. Anaesth. Analg.* 39, 21–8.
- Ribeiro, L.M., Ferreira, D.A., Bressan, N.M., Nunes, C.S., Amorim, P., Antunes, L.M., 2008. Brain monitoring in dogs using the cerebral state index during the induction of anaesthesia via target-controlled infusion of propofol. *Res. Vet. Sci.* 85, 227–32.
- Rivera, R., Antognini, J.F., 2009. Perioperative drug therapy in elderly patients. *Anesthesiology* 110, 1176–81.
- Riviere, J.E., Gabrielsson, J., Fink, M., Mochel, J., 2016. Mathematical modeling and simulation in animal health. Part I: Moving beyond pharmacokinetics. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 39, 213–23.
- Robertson, S.A., 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, 1027–32.
- Russell, D., Wilkes, M.P., Hunter, S.C., Glen, J.B., Hutton, P., Kenny, G.N., 1995. Manual compared with target-controlled infusion of propofol. *Br. J. Anaesth.* 75, 562–6.
- Sano, H., Barker, K., Odom, T., Lewis, K., Giordano, P., Walsh, V., Chambers, J.P., 2018. A survey of dog and cat anaesthesia in a sample of veterinary practices in New Zealand. *N. Z. Vet. J.* 66, 85–92.
- 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, 1141–3.
- Schäfer, R., Klett, J., Auffarth, G., Polarz, H., Völcker, H.E., Martin, E., Böttiger, B.W., 2002.

- Intraocular pressure more reduced during anesthesia with propofol than with sevoflurane: both combined with remifentanyl. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 46, 703–6.
- Schnider, T.W., Minto, C.F., Gambus, P.L., Andresen, C., Goodale, D.B., Shafer, S.L., Youngs, E.J., 1998. The influence of method of administration and covariates on the pharmacokinetics of propofol in adult volunteers. *Anesthesiology* 88, 1170–82.
- Schnider, T.W., Minto, C.F., Struys, M.M.R.F., Absalom, A.R., 2016. The Safety of Target-Controlled Infusions. *Anesth. Analg.* 122, 79–85.
- Schüttler, J., Ihmsen, H., 2000. Population pharmacokinetics of propofol: a multicenter study. *Anesthesiology* 92, 727–38.
- 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.
- Sepúlveda, P.O., Carrasco, E., Tapia, L.F., Ramos, M., Cruz, F., Conget, P., Olivares, Q.F.B., Cortínez, I., 2018. Evidence of hysteresis in propofol pharmacodynamics. *Anaesthesia* 73, 40–48.
- Servin, F., Desmots, J.M., Haberer, J.P., Cockshott, I.D., Plummer, G.F., Farinotti, R., 1988. Pharmacokinetics and protein binding of propofol in patients with cirrhosis. *Anesthesiology* 69, 887–91.
- Servin, F.S., 1998. TCI compared with manually controlled infusion of propofol: a multicentre study. *Anaesthesia* 53 Suppl 1, 82–6.
- Shafer, S.L., Egan, T., 2016. Target-Controlled Infusions: Surfing USA Redux. *Anesth. Analg.* 122, 1–3.
- Shafer, S.L., Gregg, K.M., 1992. Algorithms to rapidly achieve and maintain stable drug concentrations at the site of drug effect with a computer-controlled infusion pump. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 20, 147–69.
- Shafer, S.L., Siegel, L.C., Cooke, J.E., Scott, J.C., 1988. Testing computer-controlled infusion pumps by simulation. *Anesthesiology* 68, 261–6.
- Shafer, S.L., Varvel, J.R., Aziz, N., Scott, J.C., 1990. Pharmacokinetics of fentanyl administered by computer-controlled infusion pump. *Anesthesiology* 73, 1091–102.
- Short, C.E., Bufalari, A., 1999. Propofol anesthesia. *Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract.* 29, 747–78.
- Silva, A., Ribeiro, L.M., Bressan, N., Oliveira, P., Ferreira, D.A., Antunes, L.M., 2011. Dogs mean arterial pressure and heart rate responses during high propofol plasma concentrations estimated by a pharmacokinetic model. *Res. Vet. Sci.* 91, 278–80.
- Simons, P., Cockshott, I., Douglas, E., Gordon, E.A., Hopkins, K., 1985. Blood concentrations, metabolism and elimination after a subanesthetic intravenous dose of 14C-propofol (Diprivan) to male volunteers. *Postgrad. Med. J.* 64.

- Simons, P.J., Cockshott, I.D., Douglas, E.J., Gordon, E.A., Knott, S., Ruane, R.J., 1991. Species differences in blood profiles, metabolism and excretion of ¹⁴C-propofol after intravenous dosing to rat, dog and rabbit. *Xenobiotica*. 21, 1243–56.
- Smith, I., White, P.F., 1998a. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs used in total intravenous anaesthesia, in: *Total Intravenous Anaesthesia*. BMJ Books, London.
- Smith, I., White, P.F., 1998b. Basic pharmacokinetics and pharmacodynamics, in: *Total Intravenous Anaesthesia*. BMJ Books, London.
- Smith, I., White, P.F., 1998c. Intravenous anaesthesia delivery and monitoring systems, in: *Total Intravenous Anaesthesia*. BMJ Books, London.
- Smith, J.A., Gaynor, J.S., Bednarski, R.M., Muir, W.W., 1993. Adverse effects of administration of propofol with various preanesthetic regimens in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 202, 1111–5.
- Sneyd, J.R., 2004. Recent advances in intravenous anaesthesia. *Br. J. Anaesth.* 93, 725–736.
- Stanski, D.R., 1987. The role of pharmacokinetics in anaesthesia: application to intravenous infusions. *Anaesth. Intensive Care* 15, 7–14.
- Stephan, H., Sonntag, H., Schenk, H.D., Kohlhausen, S., 1987. Effect of Disoprivan (propofol) on the circulation and oxygen consumption of the brain and CO₂ reactivity of brain vessels in the human. *Anaesthesist* 36, 60–5.
- 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, 41–50.
- Struys, M.M.R.F., Coppens, M.J., De Neve, N., Mortier, E.P., Doufas, A.G., Van Bocxlaer, J.F.P., Shafer, S.L., 2007. Influence of administration rate on propofol plasma-effect site equilibration. *Anesthesiology* 107, 386–96.
- Struys, M.R.F., De Smet, T., Glen, J.B., Vereecke, H.E.M., Absalom, A.R., Schnider, T.W., 2016. The History of Target-Controlled Infusion. *Anesth. Analg.* 122, 56–69.
- Suttner, S., Boldt, J., Schmidt, C., Piper, S., Kumle, B., 1999. Cost analysis of target-controlled infusion-based anesthesia compared with standard anesthesia regimens. *Anesth. Analg.* 88, 77–82.
- Swinhoe, C.F., Peacock, J.E., Glen, J.B., Reilly, C.S., 1998. Evaluation of the predictive performance of a “Diprifusor” TCI system. *Anaesthesia* 53 Suppl 1, 61–7.
- Tackley, R.M., Lewis, G.T., Prys-Roberts, C., Boaden, R.W., Dixon, J., Harvey, J.T., 1989. Computer controlled infusion of propofol. *Br. J. Anaesth.* 62, 46–53.
- Takizawa, D., Hiraoka, H., Goto, F., Yamamoto, K., Horiuchi, R., 2005. Human kidneys play an important role in the elimination of propofol. *Anesthesiology* 102, 327–30.

- Taniguchi, T., Yamamoto, K., Ohmoto, N., Ohta, K., Kobayashi, T., 2000. Effects of propofol on hemodynamic and inflammatory responses to endotoxemia in rats. *Crit. Care Med.* 28, 1101–6.
- Tian, H.-T., Duan, X.-H., Yang, Y.-F., Wang, Y., Bai, Q.-L., Zhang, X., 2017. Effects of propofol or sevoflurane anesthesia on the perioperative inflammatory response, pulmonary function and cognitive function in patients receiving lung cancer resection. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 21, 5515–5522.
- Tomihari, M., Nishihara, A., Shimada, T., Yanagawa, M., Miyoshi, M., Miyahara, K., Oishi, A., 2015. A comparison of the immunological effects of propofol and isoflurane for maintenance of anesthesia in healthy dogs. *J. Vet. Med. Sci.* 77, 1227–33.
- Toutain, P.L., Bousquet-Mélou, A., 2004a. Volumes of distribution. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 27, 441–53.
- Toutain, P.L., Bousquet-Mélou, A., 2004b. Plasma clearance. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 27, 415–25.
- Tsai, Y.-C., Wang, L.-Y., Yeh, L.-S., 2008. A clinical comparative study of propofol total intravenous anesthesia in dogs. *J. Vet. Clin. Sci.* 1, 52–60.
- Tsai, Y.-C., Wang, L.-Y., Yeh, L.-S., 2007. Clinical comparison of recovery from total intravenous anesthesia with propofol and inhalation anesthesia with isoflurane in dogs. *J. Vet. Med. Sci.* 69, 1179–82.
- Umar, M.A., Fukui, S., Kawase, K., Itami, T., Yamashita, K., 2015. Cardiovascular effects of total intravenous anesthesia using ketamine-medetomidine-propofol (KMP-TIVA) in horses undergoing surgery. *J. Vet. Med. Sci.* 77, 281–8.
- Upton, R.N., Ludbrook, G.L., Grant, C., Martinez, A.M., 1999. Cardiac output is a determinant of the initial concentrations of propofol after short-infusion administration. *Anesth. Analg.* 89, 545–52.
- Urfer, S.R., Greer, K., Wolf, N.S., 2011. Age-related cataract in dogs: a biomarker for life span and its relation to body size. *Age (Dordr).* 33, 451–60.
- Vainio, O., 1991. Propofol infusion anaesthesia in dogs pre-medicated with medetomidine. *J. Vet. Anaesth.* 18, 35–37.
- Van den Nieuwenhuyzen, M.C., Engbers, F.H., Vuyk, J., Burm, a G., 2000. Target-controlled infusion systems: role in anaesthesia and analgesia. *Clin. Pharmacokinet.* 38, 181–190.
- Van Hemelrijck, J., Weekers, F., Van Aken, H., Bouillon, R., Heyns, W., 1995. Propofol anesthesia does not inhibit stimulation of cortisol synthesis. *Anesth. Analg.* 80, 573–6.
- Van Kralingen, S., Diepstraten, J., Peeters, M.Y.M., Deneer, V.H.M., van Ramshorst, B., Wiezer, R.J., van Dongen, E.P.A., Danhof, M., Knibbe, C.A.J., 2011. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of propofol in morbidly obese patients.

- Clin. Pharmacokinet. 50, 739–50.
- Varvel, J.R., Donoho, D.L., Shafer, S.L., 1992. Measuring the predictive performance of computer-controlled infusion pumps. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 20, 63–94.
- Veroli, P., O’Kelly, B., Bertrand, F., Trouvin, J.H., Farinotti, R., Ecoffey, C., 1992. Extrahepatic metabolism of propofol in man during the anhepatic phase of orthotopic liver transplantation. *Br. J. Anaesth.* 68, 183–6.
- Vuyk, J., Lim, T., Engbers, F.H., Burm, A.G., Vletter, A.A., Bovill, J.G., 1995. The pharmacodynamic interaction of propofol and alfentanil during lower abdominal surgery in women. *Anesthesiology* 83, 8–22.
- White, M., Kenny, G.N., 1990. Intravenous propofol anaesthesia using a computerised infusion system. *Anaesthesia* 45, 204–9.
- White, P.F., 1989. Clinical uses of intravenous anesthetic and analgesic infusions. *Anesth. Analg.* 68, 161–71.
- Wouters, P.F., Van de Velde, M.A., Marcus, M.A., Deruyter, H.A., Van Aken, H., 1995. Hemodynamic changes during induction of anesthesia with eltanolone and propofol in dogs. *Anesth. Analg.* 81, 125–31.
- Xu, C., Wu, X., Jiang, J., Lu, W., 2005. Population Pharmacokinetics of Propofol Administered by TCI in Chinese Elderly Patients. *J. Chinese Pharm. Sci.* 14, 154–161.
- Zaouter, C., Taddei, R., Wehbe, M., Arbeid, E., Cyr, S., Giunta, F., Hemmerling, T.M., 2017. A novel system for automated propofol sedation: hybrid sedation system (HSS). *J. Clin. Monit. Comput.* 31, 309–317.
- Zhang, Y.-Z., Zhang, R., Zeng, X.-Z., Song, C.-Y., 2016. The inhibitory effect of propofol on Kv2.1 potassium channel in rat parietal cortical neurons. *Neurosci. Lett.* 616, 93–7.
- Zonca, A., Ravasio, G., Gallo, M., Montesissa, C., Carli, S., Villa, R., Cagnardi, P., 2012. Pharmacokinetics of ketamine and propofol combination administered as ketofol via continuous infusion in cats. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 35, 580–7.
- Zoran, D.L., Riedesel, D.H., Dyer, D.C., 1993. Pharmacokinetics of propofol in mixed-breed dogs and greyhounds. *Am. J. Vet. Res.* 54, 755–60.