



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

Facoltà di Medicina Veterinaria

Corso di Laurea Specialistica in Medicina Veterinaria

Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie

TESI DI LAUREA

**LA SEDAZIONE TRAMITE CONSTANT RATE INFUSION
DI PROPOFOL NELLA PECORA: COMPARAZIONE DI
TRE PROTOCOLLI DI PREMEDICAZIONE**

Relatore: Dott.ssa DE BENEDICTIS GIULIA MARIA

Correlatori: Dott. PILLA TOMMASO

Laureanda: MENEHINI CATERINA

521058/MV

ANNO ACCADEMICO 2009-2010

ABSTRACT

Nel presente studio vengono sottoposte a sedazione un gruppo di pecore, facente parte di una sperimentazione di chirurgia vascolare, per eseguire un'analisi ecocardiografica di controllo.

OBIETTIVI DELLA TESI: si è voluto svolgere un'analisi comparativa volta a mettere in luce eventuali differenze esistenti tra i diversi protocolli usati in premedicazione. Si è verificato, inoltre, se l'aggiunta di un oppioide, agonista dei recettori κ e agonista parziale dei μ , al midazolam in premedicazione avesse un effetto di risparmio sulla quantità di propofol maggiore rispetto a quello determinato dal solo midazolam. Infine si è svolta una valutazione comparativa tra pressione arteriosa invasiva e non invasiva (rilevata sull'arto anteriore e posteriore).

MATERIALI E METODI: 6 pecore di razza Alpagota sono state sedate in 21 occasioni secondo un modello di studio randomizzato *cross-over*. Per la fase di premedicazione sono stati utilizzati tre protocolli diversi: midazolam ($0,2 \text{ mg kg}^{-1}$) e butorfanolo ($0,1 \text{ mg kg}^{-1}$) (gruppo MB, $n=8$), midazolam e pentazocina ($1,5 \text{ mg kg}^{-1}$) (gruppo MP, $n=7$) e solamente midazolam (gruppo M, $n=6$). A seguire, nella pecora, è stato indotto uno stato di sedazione più profondo tramite infusione continua di propofol alla velocità di $0,1 \text{ mg kg}^{-1}\text{minuto}^{-1}$ IV preceduta da un bolo di carico di $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ IV, con la possibilità di somministrare dei boli aggiuntivi di propofol ($0,25 \text{ mg kg}^{-1}$) per approfondire lo stato di sedazione. Per valutare la sedazione sono stati considerati i parametri cardiovascolari e respiratori, la profondità della sedazione (stimata dalla posizione dell'occhio e dalla presenza di riflesso palpebrale, del tono mandibolare, della masticazione, della deglutizione), la VAS (*visual analogue scale*), i tempi di risveglio e alcuni parametri ecocardiografici (stroke volume, portata cardiaca e frazione di accorciamento). L'analisi statistica è stata condotta tramite analisi della varianza (ANOVA) e i dati ricavati sono stati espressi come medie dei minimi quadrati (LSMEANS).

RISULTATI: non ci sono state differenze statisticamente significative riguardo ai parametri cardiovascolari e respiratori ed alla qualità di sedazione nei tre gruppi. Il gruppo MP ha avuto una frequenza maggiore ma questo è stato clinicamente poco rilevante. Tra i tre gruppi non ci sono state differenze significative riguardo ai parametri ecocardiografici considerati. La pressione arteriosa indiretta rilevata sull'arto posteriore è stata significativamente più alta rispetto alla pressione invasiva.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONE: tutti e tre i protocolli si sono mostrati adeguati ad sedazione che fosse poco invasiva sul sistema cardiovascolare e poco impattante sui parametri ecocardiografici. Non c'è stato un vantaggio sul risparmio di propofol da parte dell'aggiunta dell'oppioide. La rilevazione pressoria indiretta misurata sull'arto anteriore ha fornito dati accurati e sovrapponibili a quelli derivati dalla rilevazione invasiva della pressione.

Indice

INTRODUZIONE.....	1
1. LA SEDAZIONE.....	2
1.1. PRINCIPI GENERALI.....	2
1.2. AGENTI SEDATIVI.....	4
1.2.1. PROPOFOL COME AGENTE SEDATIVO.....	6
1.2.2. INTERAZIONE TRA I FARMACI.....	9
1.3. PUNTI DI CONTATTO TRA MEDICINA UMANA E MEDICINA VETERINARIA.....	10
1.4. LA SEDAZIONE NELLA PECORA.....	10
1.4.1. LA PECORA COME MODELLO SPERIMENTALE.....	10
1.4.2. RICHIAMI ANATOMO-FISIOLOGICI.....	11
2. FARMACI USATI PER LA SEDAZIONE NELLA PECORA.....	15
2.1. BENZODIAZEPINE.....	16
2.1.1. MIDAZOLAM NELLA PECORA.....	17
2.2. α_2 AGONISTI.....	19
2.2.1. α_2 AGONISTI NELLA PECORA.....	20
2.3. OPIOIDI.....	20
2.3.1. BUTORFANOLO NELLA PECORA.....	21
2.3.2. PENTAZOCINA NELLA PECORA.....	23
2.4. PROPOFOL.....	24
3. VALUTAZIONE DELLA SEDAZIONE.....	29
3.1. RILEVAMENTI CLINICI.....	30
3.2. PARAMETRI CARDIOVASCOLARI E RESPIRATORI.....	31
4. OBIETTIVI DELLA TESI.....	35
5. MATERIALI E METODI.....	36
5.1. STABULAZIONE DEGLI ANIMALI.....	36
5.2. PROTOCOLLO UTILIZZATO.....	37
5.3. PROCEDURA OPERATIVA.....	38
5.3.1. PREMEDICAZIONE.....	38
5.3.2. ECOCARDIOGRAFIA.....	39
5.3.3. RISVEGLIO.....	39
5.4. MONITORAGGIO E STRUMENTAZIONE.....	40
5.5. PARAMETRI ECOCARDIOGRAFICI.....	45
5.6. ANALISI STATISTICA.....	47
6. RISULTATI.....	50
6.1. COMPARAZIONE DEI TRE PROTOCOLLI.....	52
6.2. VALUTAZIONE DELLO SPARING EFFECT DELL'OPPIOIDE SUL PROPOFOL.....	67

6.3.COMPARAZIONE TRA PRESSIONE RILEVATA CON METODO INVASIVO E NON INVASIVO.....-	68
7. DISCUSSIONE.....	70
8. CONCLUSIONI.....	79
9. BIBLIOGRAFIA.....	81

INTRODUZIONE

Da diversi anni la pecora è stata accettata come modello animale ideale per la chirurgia sperimentale, specialmente in ambito cardiovascolare. Molti autori si sono quindi occupati della ricerca di protocolli anestesiológicos che potessero essere adeguati a questa specie (De Razza et al., 2004).

In questo studio è stata utilizzata una popolazione ovina che fa parte di un progetto di ricerca che ha unito tre aree diverse (Cardiologia pediatrica, Medicina interna Cardiovascolare, Medicina e Cardiologia Veterinaria) con lo scopo generale di studiare, in un modello animale, le modificazioni del sistema cardiovascolare e dell'omeostasi pressoria indotte dall'inserimento di uno stent aortico metallico in sede istmica. Il progetto di ricerca prevede diverse fasi: una prima che consiste nell'esecuzione dell'intervento chirurgico di cateterismo cardiaco, che può essere un intervento di inserimento di uno *stent* vascolare (*stenting*), o un intervento di controllo, senza posizionamento dello stesso (*shame*), dopo controllo ecocardiografico trans toracico; una seconda che prevede un controllo a cadenza mensile comprensivo di ecocardiografia trans toracica, misurazione della pressione invasiva e non invasiva e prelievo di sangue per il dosaggio dei parametri ematochimici; infine, dopo nove mesi dall'entrata nello studio di ciascun animale, si procede con il cateterismo cardiaco di controllo e quindi, con il sacrificio dell'animale e la raccolta di campioni da cuore, aorta e reni per le indagini istologiche e di biologia molecolare.

Per l'esecuzione delle ecocardiografie di controllo si è mantenuta la pecora in uno stato di sedazione continua. Si è pensato quindi di utilizzare un protocollo che permettesse di raggiungere uno stato di sedazione abbastanza profondo da riuscire a eseguire la procedura in completa sicurezza per gli operatori e con il minimo stress per l'animale. Era di fondamentale importanza che il protocollo risultasse anche poco invasivo sul sistema cardiovascolare e poco impattante sui parametri ecocardiografici per non compromettere le finalità dello studio.

1. LA SEDAZIONE

1.1. PRINCIPI GENERALI

Secondo l'*American Society of Anesthesiologists* (ASA) la condizione di "sedazione e analgesia" comprende una serie di stadi che vanno da una minima sedazione a uno stato di anestesia generale. L'ASA quindi, prendendo in considerazione quattro variabili, che sono: il livello di reattività, la risposta cardiovascolare, la funzione respiratoria e la ventilazione spontanea, ha definito quattro livelli di sedazione (Karan and Bailey, 2004). Questi sono: leggera, moderata, profonda e anestesia generale (Anesthesiology, 2002) (tabella 1.1).

Tabella 1.1: Definizione e livelli di sedazione.

	Lieve sedazione (ansiolisi)	Moderata sedazione/ analgesia	Sedazione profonda/ analgesia	Anestesia generale
Reattività agli stimoli	Risposta intenzionale alle stimolazioni verbali	Risposta intenzionale alle stimolazioni verbali o tattili	Risposta intenzionale dopo stimolazioni ripetute o dolorifiche	Non reattivo, neanche dopo stimoli dolorifici
Vie aeree	Non compromesse	Non è necessario intervenire	Può essere necessario intervenire	Spesso è necessario intervenire
Ventilazione spontanea	Non compromessa	Adeguata	Può essere inadeguata	Frequentemente inadeguata
Funzionalità cardiovascolare	Non compromessa	Di solito è mantenuta	Di solito è mantenuta	Può essere compromessa

Fonte: sviluppato dall'American Society of Anesthesiologists, 1999 (Karan et al., 2004).

Dalla tabella emerge che il primo livello, ovvero quello che comporta solo una leggera sedazione (denominata anche ansiolisi), descrive uno stato caratterizzato dal fatto che il paziente risponde ai comandi verbali e le funzioni cardiovascolare e respiratoria subiscono minime o nulle variazioni. Nel livello successivo, che rimane comunque moderato, sebbene questo comporti una maggior depressione

del livello di coscienza, il soggetto è di norma reattivo alle stimolazioni verbali (con o senza stimolazione tattile), le sue condizioni di solito rimangono stabili ed è in grado di mantenere una respirazione spontanea (Anesthesiology, 2002). Al contrario, in una sedazione profonda, che determina un ulteriore abbassamento del livello di coscienza, la risposta agli stimoli è decisamente diminuita (di solito si ha risposta solo a stimoli di tipo dolorifico) e può essere richiesta assistenza per mantenere stabile la funzione respiratoria e la ventilazione spontanea. La funzione cardiovascolare è comunque mantenuta (Karan and Bailey, 2004). Una vera e propria perdita di coscienza la si ottiene con l'ultimo livello detto di anestesia generale, dove il paziente non risponde a stimolazioni tattili o dolorifiche e la funzione respiratoria spesso deve essere assistita. La funzione cardiovascolare può essere compromessa (Anesthesiology, 2002).

I benefici più importanti che derivano dal sedare un paziente sono legati alla possibilità per il paziente stesso di tollerare diversi tipi di procedure più o meno spiacevoli alleviando il senso di ansia o il dolore che questa può arrecare o almeno ottenendo amnesia del disagio subito (Karan and Bailey, 2004). Inoltre, in bambini o in adulti non collaborativi, permette l'esecuzione di procedure che non sono particolarmente fastidiose ma che richiedono, per una corretta esecuzione, che il paziente rimanga immobile (Anesthesiology, 2002). Allo stesso tempo se si raggiunge un livello inadeguato di sedazione, oltre a non attenuare la sensazione di disagio al paziente, gli si può arrecare danno per la mancanza di collaborazione o per la risposta fisiologica allo stress subito (Anesthesiology, 2002). Questa procedura comporta comunque dei rischi, alcuni che sono farmaco specifici, come nausea, confusione o risvegli prolungati (Karan and Bailey, 2004). Tra i rischi più significativi c'è sicuramente la depressione respiratoria e cardiocircolatoria che devono essere prontamente risolte prima della comparsa di danni ischemici al cervello o dell'arresto cardiaco (Anesthesiology, 2002).

1.2. AGENTI SEDATIVI

La maggior parte dei sedativi/ipnotici determina ansiolisi e ipnosi in modo da permettere al paziente di tollerare vari tipi di procedure, ma non sono in grado di fornire un'adeguata analgesia di fronte ad uno stimolo da moderato a severo. Se usati da soli e non in combinazione possono determinare ipotensione e depressione respiratoria. Di contro, gli oppioidi, che usualmente sono impiegati in caso di procedure dolorose, sono in grado di fornire una potente analgesia ma solo una moderata sedazione. Essi possono causare depressione respiratoria e cardiocircolatoria ed altri effetti collaterali come nausea e disforia. E' opportuno quindi sfruttare il sinergismo d'azione quando si usano in combinazione queste due classi di farmaci, cosa che permette di ridurre anche le dosi dei singoli agenti anestetici (Karan and Bailey, 2004).

I farmaci più comunemente usati, e che più si avvicinano alle caratteristiche di agente sedativo ideale, sono propofol, midazolam e ketamina tra gli anestetici iniettabili e il sevofluorano tra gli agenti volatili (Gan, 2006). Tra questi solo la ketamina è in grado di fornire entrambi gli effetti, ma è meno utilizzata per via degli effetti collaterali. Più comunemente vengono utilizzati propofol o midazolam in combinazione con oppioidi (Karan and Bailey, 2004).

Sia una sedazione continua che un'anestesia possono essere mantenute con la somministrazione di boli di farmaco ripetuti oppure con un'infusione endovenosa continua. La seconda tecnica prevede la somministrazione di un bolo di carico iniziale (*loading dose*) tramite cui il farmaco raggiunge una concentrazione efficace nell'organo effetore (quindi a livello di sistema nervoso centrale) seguita, poi, da somministrazione continua con lo scopo di mantenere la concentrazione plasmatica (e quindi di mantenere l'anestesia) ad un livello costante, compensando le perdite di farmaco dovute a redistribuzione, metabolismo ed escrezione (Hohener et al., 2008). Nel caso di un'anestesia e non di una sedazione la dose iniziale di carico è equivalente alla dose di induzione (Seymour and Duke-Novakovsky, 2007). L'infusione può essere a velocità costante (*constant rate infusion*, CRI) con o senza aggiustamenti manuali (*variable rate infusion*, VRI) oppure può essere somministrata tramite la tecnica TCI (*target-controlled infusion*) con la quale si somministra la quantità di farmaco che serve per raggiungere una determinata concentrazione plasmatica impostata dall'anestesista. Quest'ultima tecnica permette di avere un maggior controllo sulla profondità dell'anestesia (Hohener et al., 2008).

La somministrazione tramite boli, pur essendo una tecnica semplice e che non richiede particolari strumentazioni, ha lo svantaggio di ottenere una concentrazione plasmatica del farmaco molto variabile che determina un effetto farmacologico eccessivo subito dopo la somministrazione del primo bolo e insufficiente prima del bolo successivo e un'instabilità cardio-polmonare maggiore. L'infusione continua, invece, permette di ottenere un piano anestetico molto più stabile, con una minor variabilità nella concentrazione plasmatica e quindi negli effetti a livello di sistema nervoso centrale e con un impatto minore sulla funzionalità cardiocircolatoria e polmonare (Hohener et al., 2008).

L'infusione necessita di particolari strumentazioni per la somministrazione. Queste sono chiamate pompe-siringhe (Figura 1.1) e permettono, dopo aver impostato una particolare velocità di infusione in millilitri ora⁻¹ (ml h⁻¹), di somministrare il farmaco ad una velocità costante. Non richiedono particolari prolunghe come invece le pompe d'infusione volumetriche e permettono di aggiustare la dose d'anestetico indipendentemente dalla dose di fluidi somministrata. Possono essere impostate velocità fino a 0,01 ml h⁻¹ e permettono di somministrare il farmaco con un'accuratezza molto alta (2-3%) (Seymour and Duke-Novakovsky, 2007).



Figura 1.1 Esempio di pompa-siringa utilizzata per l'infusione continua di farmaci (Fresenius, Pilotec, Italia).

1.2.1. PROPOFOL COME AGENTE SEDATIVO

Il propofol, grazie alle sue caratteristiche farmacocinetiche, è comunemente usato sia in medicina veterinaria che in medicina umana per produrre effetti che vanno da una moderata sedazione ad una profonda ipnosi fino ad uno stato di anestesia generale (Brosnan, 2009).

Il propofol è un derivato fenolico con proprietà sedative ed ipnotiche, formulato come un'emulsione lipidica per uso endovenoso (Adams, 1999). La formulazione attuale, costituita da derivati della soia e dell'uovo, non contiene agenti antibatterici quindi, considerata la composizione favorevole per la crescita di microrganismi dannosi e tossine, il prodotto dovrebbe essere usato nel più breve tempo possibile una volta aperta la fiala (Seymour and Duke-Novakovsky, 2007).

Il meccanismo d'azione è riconducibile ad un aumento dell'attività dei recettori GABA_A e ad una diminuzione dell'attività simpatica (Corletto, 2008).

Grazie alla sua caratteristica d'elevata liposolubilità passa molto velocemente la barriera emato-encefalica e questo fa sì che l'insorgenza dell'effetto sia rapida (McKeage and Perry, 2003). Ha un elevato volume di distribuzione e inizialmente si distribuisce nei tessuti molto vascolarizzati, poi in quelli meno vascolarizzati, infine nei tessuti di deposito (Gan, 2006).

Ha un elevato legame proteico ed è metabolizzato principalmente per glucuronidazione (Corletto, 2008). Il fegato è il principale sito di metabolizzazione del farmaco tuttavia in numerosi studi è stato osservato che la *clearance* plasmatica del propofol supera il flusso epatico (Kuipers et al., 1999). E' stato, quindi, ipotizzato che il farmaco abbia altri siti di metabolismo oltre a quello epatico, probabilmente a livello intestinale e polmonare (Kuipers et al., 1999). La *clearance* polmonare del propofol è stata dimostrata sia negli uomini che in modelli animali come la pecora e il suino (Kuipers et al., 1999). I metaboliti inattivi sono poi eliminati tramite le urine (Seymour and Duke-Novakovsky, 2007).

La curva di eliminazione del farmaco è trifasica ed è caratterizzata da una prima fase rapida che rappresenta la ridistribuzione del farmaco nei tessuti periferici, una seconda fase più lunga che rappresenta il metabolismo del farmaco, infine una terza fase, che è la più lenta, che riguarda l'eliminazione dai tessuti adiposi

scarsamente vascolarizzati (Ludbrook et al., 1999b; Bettschart-Wolfensberger et al., 2000). Per questo motivo, dopo aver cessato l'infusione, il risveglio, la cui velocità dipende dalla profondità di sedazione che si è raggiunta, dalla durata di infusione e dal peso del paziente, è più rapido e prevedibile rispetto agli altri agenti anestetici comunemente usati (McKeage and Perry, 2003). Oltre alla rapidità, un'altra caratteristica del propofol che lo distingue è la qualità del risveglio che è stata dimostrata essere migliore (Glowasky Wetmore, 1999), con minima confusione e disorientamento (Corletto, 2008).

Per ottenere uno stato sedativo il propofol è somministrato a dosi sub-anestetiche, non sufficienti per ottenere una sicura intubazione. In letteratura per ottenere sedazione profonda nei piccoli animali è riportato un dosaggio pari a $0,2 \text{ mg kg}^{-1}\text{minuto}^{-1}$, che si riferisce al mantenimento dopo un bolo di carico che varia secondo la premedicazione ($2\text{-}4 \text{ mg kg}^{-1}$) (Glowasky and Wetmore, 1999). La profondità di sedazione che si riesce ad ottenere è altamente dose dipendente ed esiste una correlazione tra la concentrazione plasmatica del farmaco ed il livello di sedazione (McKeage and Perry, 2003). A queste dosi la depressione cardiovascolare è minima, soprattutto se somministrato lentamente fino a che si è raggiunto lo stato di rilassamento desiderato e occasionalmente si può osservare l'insorgenza di un'attività mioclonica caratterizzata da contrazioni involontarie della muscolatura degli arti e del tronco (Glowasky and Wetmore, 1999).

Il propofol presenta il vantaggio di poter essere somministrato in boli ripetuti o in infusione senza significativo accumulo (Corletto, 2008; Larenza et al., 2005). Per procedure limitate nel tempo (< 30 minuti) è stato dimostrato, in uno studio eseguito su bambini che si sottoponevano a risonanza magnetica, che la somministrazione endovenosa continua con bolo di carico e la somministrazione in bolo singolo non differivano rispetto ai tempi di on-set e alla stabilità della sedazione, mentre nel secondo caso diminuivano in modo significativo i tempi di risveglio (Cho et al, 2009). Per tempi più lunghi, invece, la somministrazione in singoli boli ripetuti può aumentare i rischi di avere sovraddosaggio del farmaco e apnea dopo la somministrazione (Karan and Bailey, 2004), mentre l'infusione continua permette di minimizzare i rischi di incorrere in effetti collaterali, di non avere del personale impiegato nella somministrazione di boli continui (Glowasky and Wetmore, 1999) e permette inoltre di avere un maggior controllo della profondità di sedazione modificando la velocità fino a raggiungere il livello desiderato (McKeage and Perry, 2003).

Durante un'infusione continua o con la somministrazione tramite boli ripetuti, la profondità di sedazione deve essere monitorata e la quantità di farmaco dosata in modo da mantenere un adeguato ma non eccessivo livello (Glowasky and Wetmore, 1999). Infatti, durante una sedazione moderata, è facile che questa si approfondisca troppo e passi ad un livello di sedazione profonda, oppure che da questo livello si passi ad una condizione di anestesia generale. Per questo, oltre ad un attento monitoraggio, è bene che si abbia sempre a disposizione il materiale per fornire ossigeno ed i farmaci d'emergenza per intervenire nel caso in cui si dovesse deprimere troppo la funzione respiratoria e cardiovascolare (Karan and Bailey, 2004).

Gli effetti collaterali principali di questo farmaco sono la depressione respiratoria, che è osservata più comunemente a dosi anestetiche, e la diminuzione della gittata cardiaca; entrambi gli effetti si osservano, più frequentemente, quando viene usato in combinazione con oppioidi (Gan, 2006). Siccome il propofol è rapidamente ridistribuito dal sangue ai tessuti periferici, l'effetto sul sistema respiratorio finisce rapidamente quando l'infusione viene interrotta (McKeage and Perry, 2003). Inoltre, può avere un effetto ipotensivo che generalmente è dipendente dalla dose e dalla velocità d'infusione e si verifica più spesso con la somministrazione in boli rapidi. La diminuzione della pressione arteriosa è dovuta sia alla diminuzione delle resistenze periferiche che ad un calo della contrattilità cardiaca (McKeage Perry, 2003). Nonostante l'effetto ipotensivo, il propofol determina anche una riduzione della frequenza cardiaca (Gan, 2006). In un paziente in condizioni normali, se somministrato lentamente e a dosi non elevate, non diminuisce significativamente la contrattilità miocardica, mentre nel caso di un paziente con patologie cardiocircolatorie può destabilizzare i meccanismi di compensazione messi in atto dall'organismo (Corletto, 2008). Ad ogni modo, sia la depressione cardiovascolare che la respiratoria è poco comune alle dosi che inducono solo uno stato sedativo (Brosnan and Steffey, 2009).

1.2.2. INTERAZIONE TRA I FARMACI

I protocolli che si utilizzano per una sedazione moderata, di solito, prevedono l'uso di più di un agente anestetico che può essere la combinazione di due ansiolitici/ipnotici come il propofol e midazolam oppure l'aggiunta di un oppioide con lo scopo di incrementare l'effetto ipnotico e analgesico (Gan, 2006).

In letteratura è riportato un sinergismo d'azione tra midazolam e propofol, probabilmente dovuto all'interazione con i recettori dell'acido γ -aminobutirrico, tanto che è possibile ridurre la dose di propofol quando si usano in combinazione (Seifert et al, 2000).

La somministrazione di midazolam determina un ulteriore calo della pressione arteriosa e della gittata cardiaca, mentre la frequenza cardiaca è più elevata rispetto alla somministrazione di propofol senza l'aggiunta del midazolam (Vuyk et al, 2009). In uno studio che comparava la sedazione con solo propofol e la sedazione con propofol e midazolam per permettere l'esecuzione di un'endoscopia, è stato dimostrato che il midazolam somministrato in combinazione col propofol altera la farmacocinetica di quest'ultimo aumentandone la concentrazione plasmatica. L'effetto è dovuto alle alterazioni emodinamiche provocate dalla somministrazione combinata dei due farmaci (Vuyk et al, 2009). Sebbene l'uso di entrambi i farmaci insieme permetta di ridurre la quantità di propofol utilizzata (*sparing effect*), si è visto che la qualità della sedazione non migliorava rispetto alla somministrazione di solo propofol, anzi c'era un peggioramento nella qualità e nei tempi di risveglio (Seifert et al., 2000).

Il propofol non ha proprietà analgesiche, quindi, somministrarlo con un analgesico, come un oppioide, permette di diminuire il livello di reattività del paziente alle manipolazioni più o meno invasive e di ridurre la quantità di anestetico necessario per mantenere il paziente in decubito (Glowasky and Wetmore, 1999). Questa combinazione però aumenta i rischi di avere maggiori effetti depressanti sul sistema cardiocircolatorio e respiratorio (Gan, 2006).

1.3. PUNTI DI CONTATTO TRA MEDICINA UMANA E MEDICINA VETERINARIA

In medicina umana è frequente l'uso di un protocollo sedativo per vari tipi di procedure terapeutiche e diagnostiche come ad esempio gastroscopie, broncoscopie e colonscopie (Gan, 2006). In particolare la situazione che ha più punti in comune con la medicina veterinaria è la pediatria che ha a che fare spesso con pazienti che non sono collaborativi. Quindi, particolari procedure, anche se non sono invasive o particolarmente fastidiose, ma che richiedono che il paziente rimanga perfettamente immobile, necessitano che questo venga tenuto in uno stato di sedazione continua (Cho et al., 2009). A questo scopo, il propofol è usato di routine dal momento che è in grado di fornire una sedazione affidabile caratterizzata da immobilizzazione del paziente, possibilità di mantenere la ventilazione spontanea, brevi tempi di risveglio e minima compromissione cardiocircolatoria a dosi sub-anestetiche ($10 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ IV dopo bolo di carico di $0,5\text{-}1 \text{ mg kg}^{-1}$ IV in pazienti premedicati con $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ IV di midazolam) (Buehrer et al., 2007).

1.4. LA SEDAZIONE NELLA PECORA

1.4.1. LA PECORA COME MODELLO SPERIMENTALE

Da diversi anni la pecora è stata accettata come modello animale per la cardiocirurgia sperimentale (Schauvliege et al., 2005). La scelta è ricaduta su questa specie soprattutto grazie alla somiglianza dell'apparato cardiovascolare ovino con quello umano. Essendo di taglia media e di indole docile, si presta più facilmente alla manipolazione permettendo una corretta gestione pre e post operatoria. La stabulazione e il mantenimento sono relativamente economiche, ed è facile guadagnare l'accesso venoso e arterioso periferico. Anche la capra è stata utilizzata con successo ma l'esperienza con questa specie è ridotta (Ali et al., 1996).

Il contenimento dei piccoli ruminanti non offre particolari difficoltà considerando la taglia ridotta e il carattere abbastanza docile di questi animali e spesso questo, in combinazione con tecniche di anestesia loco-regionale, consente di portare a termine diverse procedure diagnostiche e chirurgiche minori. Tuttavia per alcune tecniche più complicate o invasive è preferibile ed eticamente più corretto eseguire una sedazione profonda o indurre e mantenere l'animale in anestesia generale (White and Taylor, 2000).

Pecore e capre dopo una leggera sedazione possono perdere la stazione. Questo è un problema più per i grossi ruminanti che spesso vengono sottoposti a chirurgie addominali da eseguirsi con l'animale in stazione, mentre nei piccoli è una evenienza più rara. Al contrario, se la procedura richiede l'animale in decubito, sedare prima dell' induzione può facilitare la preparazione permettendo di avere un maggior controllo dell'animale. Inoltre, riduce la dose degli anestetici richiesti per indurre e mantenere l'animale in anestesia generale, permette di avere un' induzione più stabile e controllata e con alcuni farmaci può fornire una prima analgesia (Fish et al., 2009).

1.4.2. RICHIAMI ANATOMO-FISIOLOGICI

Ci sono alcune considerazioni importanti che riguardano l'anatomia e la fisiologia dei ruminanti che devono essere affrontate in quanto influenzano la gestione anestesiológica dell'animale (Fish et al., 2009).

Nella pecora la produzione di saliva è elevata e può raggiungere 16 L giorno⁻¹. La maggior parte è prodotta dalla ghiandola parotide durante l'alimentazione e la ruminazione (Fish et al., 2009). Non è ben conosciuto l'effetto che l'anestesia ha sulla salivazione, tuttavia, osservazioni cliniche indicano che questa aumenta in maniera più importante rispetto alle altre specie. Inoltre, con la soppressione della deglutizione, si ha la presenza di una copiosa quantità di saliva nel cavo orale e, quindi, un'abbondante fuoriuscita della stessa dalla bocca. Per queste ragioni le vie aeree dovrebbero essere sempre protette da un tracheotubo cuffiato e la saliva accumulata in faringe dovrebbe essere rimossa prima dell'estubazione o tramite aspirazione o abbassando la testa dell'animale (Fish et al., 2009). La somministrazione di anticolinergici come l'atropina o il glicopirrolato prima dell'induzione è controindicata, infatti la dose necessaria per prevenire la salivazione (0,2-0,8 mg kg⁻¹) è alta e può determinare tachicardia o effetti oculari

(Hall et al., 2001). Viceversa, a bassi dosaggi, ad esempio quelli utilizzati per prevenire la bradicardia (0,06-0,1 mg kg⁻¹), si ottiene un aumento della viscosità della saliva perché ne viene diminuito il contenuto acquoso ed è più difficile da rimuovere dalle vie aeree (Tranquilli et al., 2007).

Lo stomaco dei ruminanti è voluminoso e occupa il 75% della cavità addominale. Esso consiste di 4 compartimenti (rumine, reticolo, abomaso e omaso) ed ha una capacità variabile che nella pecora adulta può raggiungere i 25 litri (Ali et al., 1996). In particolare il rumine può arrivare a contenere 15-18 litri, cioè il 25-35% dell'intera massa corporea e produce un elevato volume di gas attraverso la fermentazione (5 litri h⁻¹ di CO₂ e metano 2-4 ore dopo il pasto). Questi gas sono poi eliminati, nell'animale sveglio, tramite l'eruttazione (Fish et al., 2009). Il volume e il peso del tratto gastrointestinale rendono i ruminanti suscettibili ad una serie di complicazioni legate al decubito e all'anestesia tra cui le principali sono: timpanismo, rigurgito, reflusso rumino-esofageo e polmonite *ab ingestis* (Tranquilli et al., 2007).

Il timpanismo è il risultato della distensione rumino-reticolare provocata dai gas che si accumulano e non possono venire eruttati in quanto la motilità gastrointestinale è inibita e l'eruttazione impedita dalla maggior parte degli anestetici (Fish et al., 2007). Il rigurgito, che è una fase attiva della ruminazione durante la quale il bolo alimentare viene spinto dal rumine fino alla cavità orale per un'ulteriore masticazione, è una complicazione a cui si può incorrere sia quando si ottiene un piano anestetico superficiale che profondo. Infatti tentare l'intubazione quando si è ottenuto un piano troppo superficiale porta alla stimolazione della laringe e del riflesso tossigeno che può provocare un'improvvisa emissione di contenuto ruminale (che è l'espressione di un processo analogo al vomito). Ad uno stadio più profondo dell'anestesia, di contro, c'è il rischio che parte del contenuto ruminale passi attraverso il cardia e lo sfintere esofageo che risultano rilassati per effetto dei farmaci (Fish et al., 2007). La maggior parte degli autori sono quindi concordi nell'importanza di mettere a digiuno la pecora per ridurre il rischio associato a queste complicazioni (Tranquilli et al., 2007). Sottoponendo ad anestesia sei bovini in due occasioni, prima tenendoli a digiuno da 24h e poi non privandoli né di cibo né di acqua, si è ottenuto che tutti gli animali che non avevano digiunato sono diventati timpanici in corso di anestesia e due hanno rigurgitato (Blaze et al., 1988). Se da un lato è provata l'importanza che ha il digiuno pre-anestetico, non ci sono dei protocolli standardizzati in letteratura. Alcuni sostengono che la pecora dovrebbe essere messa a digiuno 12-18h prima di essere sottoposta ad anestesia e privata di

liquidi per 8-12h in modo da ridurre il volume reticolo-ruminale (Tranquilli et al., 2007). Altri ritengono che sia necessario un periodo maggiore e privano l'animale del cibo 24h prima dell'intervento (Hall et al., 2001; Fish et al., 2009). Altri ancora aumentano i tempi di digiuno (48h) e di privazione dei liquidi (24h) (Carrol et al., 1998). Infine, in uno studio che valutava l'effetto di due protocolli sedativi diversi nella pecora, gli animali sono stati privati di solidi 24h prima della somministrazione dei farmaci, ma l'accesso all'acqua non è mai stato negato. Gli autori non hanno segnalato nessun evento avverso che potesse essere ricondotto all'assunzione di liquidi prima dell'anestesia (Kastner et al., 2006).

Anche la funzionalità respiratoria e cardiovascolare possono essere migliorate dalla riduzione del volume del tratto gastroenterico perché, diminuendo la compressione sui vasi maggiori e la pressione sul diaframma, aumenta il ritorno venoso e l'espansione polmonare. Al contrario, se il rumine è troppo voluminoso, comprime i vasi e preme sul diaframma. Questa situazione ostacola il ritorno venoso e determina abbassamento della pressione arteriosa, della pressione parziale di ossigeno (PaO_2) e un aumento della pressione parziale di anidride carbonica (PaCO_2) (Fish et al., 2009).

Il respiro di bovini, ovini e caprini è caratterizzato da una frequenza più alta e da un volume tidale più basso di quelli che si osservano, a parità di massa corporea, nei non ruminanti (Fish et al., 2009). Il meccanismo legato alla tachipnea non è del tutto chiarito. Il processo di fermentazione ruminale comporta una grossa produzione di CO_2 che viene eliminata tramite l'eruttazione. Durante il processo di eliminazione parte di questo gas metabolico può raggiungere le vie aeree e stimolare la ventilazione aumentando la frequenza respiratoria (Mortola and Lanthier, 2005). Anche il rumine, a causa della pressione che esercita sul diaframma, limita l'espansione polmonare e diminuisce il volume tidale. In questa situazione di bassa compliance polmonare, per diminuire la richiesta energetica necessaria per la respirazione è vantaggioso che il respiro sia più frequente e superficiale (Fish et al., 2009). E' stato dimostrato che l'elevata frequenza respiratoria che caratterizza bovini, ovini e capre non è una caratteristica comune a tutti i ruminanti, ma solo della famiglia *Bovidae* (Mortola and Lanthier, 2005). Comparando la frequenza respiratoria rapportata al peso corporeo a riposo in due gruppi (ruminanti e non ruminanti) i valori erano significativamente più alti nel primo gruppo e questo era interamente imputabile alla famiglia *Bovidae*, mentre per altre famiglie, come *Giraffidae*, *Cervidae* e *Camelidae*, i valori erano paragonabili ai non ruminanti. La fermentazione ruminale non sembra essere, quindi, uno stimolo importante per la respirazione

perché la tachipnea, altrimenti, dovrebbe essere una caratteristica di tutti i ruminanti, non solo dei Bovidi. Il peso del rumine sul diaframma invece spiega meglio questo tipo di respiro, infatti i dati in letteratura indicano che la capacità ruminale di *Cervidae*, *Giraffidae* e *Camelidae* è minore rispetto alla famiglia *Bovidae* (Mortola and Lanthier, 2005). In questi animali quindi la depressione respiratoria determinata da alcuni agenti anestetici, che provoca una diminuzione della frequenza respiratoria e del volume tidale, ha un effetto maggiore sui gas ematici rispetto agli altri mammiferi (Fish et al., 2009).

2. FARMACI USATI PER LA SEDAZIONE NELLA PECORA

I farmaci di più comune impiego per la sedazione della pecora sono riportati nella tabella 2.1 e possono essere somministrati per via intramuscolare o endovenosa (Fish et al., 2009). Nel primo caso i siti preferibili sono il muscolo semimembranoso e semitendinoso e, per piccoli volumi da iniettare, il collo. Nel secondo caso la vena cefalica dell'arto anteriore o la safena nel posteriore sono facilmente evidenziabili dopo una adeguata tricotomia (Hall et al., 2001). Bisogna considerare però che la vena cefalica è più obliqua rispetto al cane (Hall et al., 2001). La vena giugulare può essere cateterizzata più facilmente nella capra rispetto alla pecora, avendo quest'ultima un collo più corto e spesso. Le vene auricolari sono ben visibili dopo tricotomia e facilmente cateterizzabili (Hall et al., 2001).

Di seguito verrà fatta una rapida descrizione dei principali agenti sedativi usati nella pecora e verranno trattati in maniera più ampia quelli che sono stati somministrati nello studio, cioè midazolam, butorfanolo, pentazocina e propofol.

Tabella 2.1: Dosaggi e vie di somministrazione dei farmaci sedativi più comunemente usati nei piccoli ruminanti.

Farmaci	Pecora (mg kg⁻¹)	Capra (mg kg⁻¹)
Acepromazina	0,02;IV, IM	0,02;IV, IM
Medetomidina	0,02-0,3;IV, IM	0,02;IV, IM
Xylazina	0,05-0,2; IV, IM	0,02-0,1; IV, IM
Detomidina	0,03; IV,IM	0,03; IV,IM
Romifidina	0,05; IV, IM	0,05; IV, IM
Diazepam	0,25-0,5; IV	0,25-0,5; IV
Midazolam	0,1-0,3; IV,IM	0,4; IV,IM
Morfina	0,25-0,5; IV, IM	2; IV, IM
Butorfanolo	0,05; IV, IM	0,05-0,1; IV, IM
Pentobarbitale	N/A	N/A

Note: N/A: non disponibile.

Fonte: (Fish et al., 2009) modificata.

2.1. BENZODIAZEPINE

In medicina umana questa categoria di farmaci trova largo impiego, in virtù delle sue proprietà ansiolitiche, nel trattamento dell'agitazione prima di un intervento chirurgico. Altri effetti clinici desiderati sono miorilassamento, disinteresse nei confronti dell'ambiente circostante e amnesia anterograda (negli esseri umani); è, inoltre, un ottimo anticonvulsivante e, a dosi elevate, induce sedazione e ipnosi (Corletto, 2008).

Midazolam e diazepam sono le benzodiazepine più comunemente utilizzate in medicina veterinaria. Entrambe hanno una spiccata lipofilia che è responsabile del loro ampio volume di distribuzione, hanno metabolismo epatico e un elevato legame proteico (Adams, 1999). Tuttavia, essendo il midazolam più liposolubile, ne consegue che l'insorgenza dell'effetto è più rapida rispetto al secondo farmaco, inoltre ha una potenza 3-4 volte maggiore (Corletto, 2008). Poiché l'anello imidazolico del midazolam viene rapidamente ossidato dal fegato e la trasformazione epatica produce metaboliti inattivi, la sua durata d'azione è più breve, ha minori rischi di accumulo e i tempi di risveglio sono più ristretti. In considerazione di ciò il midazolam viene classificato come benzodiazepina a breve durata d'azione, mentre il diazepam a lunga durata (Adams, 1999).

Il meccanismo d'azione di questa categoria di farmaci consiste nel potenziamento dell'azione dell'acido γ -amminobutirrico (GABA), uno dei più potenti neurotrasmettitori inibitori del sistema nervoso centrale, tramite legame con il recettore GABA_A in un sito specifico, aumentando la frequenza di apertura dei canali per il cloro e iperpolarizzando così la cellula (Corletto, 2008). Sebbene i recettori GABA_A siano localizzati nella corteccia cerebrale, nel talamo, nell'ippocampo, nell'ipotalamo, nella corteccia cerebellare e nel midollo spinale, le benzodiazepine esercitano il loro effetto sedativo principalmente attraverso la depressione del sistema limbico e le loro proprietà miorilassanti attraverso l'inibizione degli interneuroni a livello spinale (Hall et al., 2001).

Anche se le benzodiazepine, a differenza della maggior parte dei GABA agonisti, non sono in grado da sole di determinare una vera e propria perdita di coscienza, si prestano comunque bene in premedicazione per indurre ansiolisi e

tranquillizzazione e come co-induttori, sempre in combinazione con altri farmaci (Fish et al., 2009). In entrambi i casi, l'uso del midazolam permette di ridurre le dosi dell'anestetico impiegato per l'induzione (*sparing effect*) (Hall et al., 2001). In animali in buona salute e giovani la sedazione che si riesce ad ottenere può essere minima o nulla, inoltre può determinare eccitazione a causa della perdita dei comportamenti inibitori acquisiti (Hall et al., 2001).

L'idro-liposolubilità del midazolam è pH dipendente. La formulazione per uso parenterale ha un pH di 3,5 ed è quindi idrosolubile. Questo permette di poter somministrare il farmaco sia per via endovenosa che per via intramuscolare senza causare dolore o irritazione. Quando il pH > 4,0 la configurazione chimica della molecola cambia e diventa liposolubile (Fish et al., 2009).

Come la maggior parte della benzodiazepine ha minimi effetti cardiovascolari e respiratori (Corletto, 2008).

2.1.1. MIDAZOLAM NELLA PECORA

La somministrazione endovenosa di midazolam da solo nella pecora può determinare sedazione per circa 15-30 minuti, ma il grado di sedazione in animali sani è imprevedibile (Hall et al., 2001; Johansen et al., 2004). In letteratura è dimostrato che la dose di 0,3 mg kg⁻¹ IV permette di avere la pecora in decubito sternale per 10-20 minuti (Kyles et al., 1995).

Nei piccoli ruminanti la sedazione prodotta dal midazolam non è particolarmente profonda ed è altamente dose dipendente (Stegmann and Bester, 2001). Somministrando per via endovenosa questo farmaco a quattro livelli di dose (0,05 mg kg⁻¹; 0,1 mg kg⁻¹; 0,2 mg kg⁻¹; 0,4 mg kg⁻¹) si è osservato che la dose più bassa non produceva perdita di coscienza, ma solamente uno stadio transitorio di sonnolenza. La dose di 0,2 mg kg⁻¹ determinava perdita di conoscenza per circa 20 minuti con un'anestesia, tuttavia, di bassa qualità, caratterizzata da alcune pecore che si muovevano e che passavano continuamente e in modo prevedibile dallo stato di sedazione alla veglia. Inoltre l'on-set e l'offset si sono dimostrati essere particolarmente lenti. La dose più alta, invece, ha determinato un aumento del tempo di risveglio e una profondità di sedazione maggiore (Upton et al., 2009). Sebbene a basse dosi (0,1 mg kg⁻¹ IV) il midazolam determini solo una leggera sedazione, è stato osservato che l'aggiunta

di un oppioide (in questo caso il metadone alle dosi di 0,1 mg/kg IV) ha aumentato gli effetti sedativi del primo farmaco, dimostrando quindi una sinergia d'azione (Schauvliege et al., 2006).

Per quanto riguarda gli effetti cardiovascolari e respiratori, questo farmaco può indurre depressione respiratoria, diminuzione della pressione arteriosa media e della pressione venosa centrale. Tutti questi effetti, essendo dose dipendenti e proporzionali alla profondità dell'anestesia, sono quindi minimi alle dosi comunemente impiegate per la premedicazione e la sedazione (Upton et al, 2009).

La somministrazione endovenosa di midazolam nei piccoli ruminanti può causare anche atassia (Hall et al., 2001). L'eccitazione, che si manifesta soprattutto precocemente, sembra essere legata a dosaggi bassi e alla rapidità d'infusione. Dopo somministrazione di questa benzodiazepina alla dose di 0,1 mg kg⁻¹ IV, considerato un basso dosaggio, si è ottenuta eccitazione in 3 pecore su 7 (Raekallio et al., 1998). Al contrario dosi moderatamente alte (fino a 0,5 mg kg⁻¹), somministrate lentamente in vena, permettono di avere l'animale sedato e in decubito per un breve periodo, che può essere sufficiente per procedure minori e non dolorose (Fish et al., 2009).

Per una sedazione più affidabile è consigliabile associare un altro farmaco che ne incrementi l'effetto ipnotico. Nella maggior parte dei casi si associa alla ketamina, ad un oppioide o ad un α -2 agonista (Fish et al., 2009).

Oltre all'atassia, come effetto collaterale nella pecora, è segnalato anche un aumento della salivazione (Kyles et al., 1995). In particolare, nella capra, è stato riscontrato dopo somministrazione endovenosa in tutti gli animali trattati, ma non dopo somministrazione intramuscolare (Stegmann and Bestier, 2001).

Studi effettuati sulla pecora hanno dimostrato che la somministrazione intravenosa di midazolam alle dosi di 0.1-0.3 mg kg⁻¹ determina una significativa riduzione della risposta dell'animale agli stimoli dolorifici per circa 20 minuti e che questo effetto è parzialmente mediato a livello spinale. La somministrazione di flumazenil, antagonista delle benzodiazepine (20 microgrammi kg⁻¹), determina una riduzione, non un'abolizione completa di quest'effetto. (Kyles et al., 1995)

Altri studi hanno dimostrato che la somministrazione di midazolam da solo o associato a butorfanolo o acepromazina induce una buona sedazione, con valori

riferiti al sistema cardiocircolatorio e respiratorio vicini ai valori considerati nella norma, e riduce significativamente la dose di propofol richiesta per l'induzione (Dzikiti et al., 2009).

2.2. α_2 AGONISTI

Gli α_2 agonisti sono una classe di farmaci molto popolare in medicina umana e forse ancor più in veterinaria, grazie alle loro proprietà ansiolitiche, sedative e analgesiche (Celly et al., 1999).

Di questa classe di farmaci i più utilizzati sono xylazina, detomidina, medetomidina, dexmedetomidina e romifidina. L'effetto sedativo è causato dall'interazione con i recettori α_2 adrenergici situati a livello centrale (Tranquilli et al., 2007), è caratterizzato da un rapido on-set e può andare da una leggera sedazione al decubito (Fish et al., 2008). Il grado di sedazione prodotto dipende sia dalla dose del farmaco utilizzata che dal temperamento dell'animale; quindi dosi basse determinano sedazione senza indurre il decubito nell'animale, invece dosi più alte determinano perdita della stazione, sedazione profonda e, per quanto riguarda la xylazina, possono indurre anche un piano leggero di anestesia generale (Tranquilli et al., 2007).

Per quanto riguarda gli effetti sul sistema cardiovascolare, essi sono mediati a livello centrale e periferico attraverso l'interazione con i recettori α_2 e α_1 adrenergici. A livello centrale l'interazione determina una diminuzione del tono simpatico e del rilascio di norepinefrina con riduzione della pressione arteriosa e della gittata cardiaca. A livello periferico determinano un'iniziale vasocostrizione che attiva la risposta parasimpatica con conseguente bradicardia. Quindi la risposta bifasica è caratterizzata da un'iniziale ipertensione a cui fa seguito ipotensione per gli effetti sia centrali che periferici (Hall et al., 2001). Gli α_2 agonisti, come gli oppioidi, riducono significativamente le dosi di propofol necessarie per sedare profondamente o indurre il paziente (Seymour and Duke-Novakovsky, 2007).

2.2.1. ALFA-2 AGONISTI NELLA PECORA

Gli α_2 agonisti risultano essere i farmaci di elezione per fornire analgesia e sedazione nella pecora (Grant et al., 1996). Gli effetti analgesici degli oppioidi in questi animali sono meno importanti rispetto alle altre specie, inoltre alte dosi di questi possono indurre cambiamenti comportamentali ed eccitazione dopo la somministrazione (Grant et al., 1996).

Per quanto riguarda l'uso della xylazina nella pecora, è stata riportata una variazione degli effetti analgesici che sono mediati a livello spinale e sovra-spinale, dipendente dalla razza (Hall et al., 2001).

I piccoli ruminanti sono molto sensibili agli effetti degli α_2 agonisti sul sistema respiratorio, in particolare, è stata dimostrata l'insorgenza di ipossiemia e di edema polmonare dopo la somministrazione a dosi anestetiche (Celly et al., 1999; Chittick et al., 2001). Esiste una variabilità individuale e di razza rispetto all'insorgenza di quest'effetto che si manifesta in forma più severa dopo somministrazione intravascolare (Kastner, 2006; Kilic et al., 2008).

2.3. OPPIOIDI

Gli oppioidi sono i farmaci d'eccellenza per la terapia analgesica perioperatoria in molte specie animali (Carroll et al., 2001). L'azione analgesica dipende dall'interazione con recettori specifici: μ , κ , δ . I recettori δ interagiscono soprattutto con peptidi prodotti dall'organismo (come le endorfine) e quindi hanno scarsa rilevanza clinica; i recettori μ hanno elevata affinità per gli oppioidi e sono responsabili dell'attività analgesica mediata a livello sovra-spinale (quindi modulano la trasmissione del dolore a livello spinale attivando vie inibitorie discendenti) e sono anche responsabili della depressione respiratoria e dell'azione immunomodulatoria sui globuli bianchi; i recettori κ inducono analgesia, probabilmente a livello spinale e non inducono depressione respiratoria (Corletto, 2008).

Nei ruminanti il loro uso è limitato per via degli effetti depressanti sul sistema cardiaco e respiratorio e per il rischio di causare cambiamenti comportamentali,

in particolare eccitazione post-somministrazione (Carrol et al., 1998b). Per questo motivo molto spesso sono usati in combinazione con altri farmaci, specie con un α_2 agonista (Carrol et al., 1998b).

2.3.1. BUTORFANOLO NELLA PECORA

Il butorfanolo tartato è un analgesico ad azione centrale (Adams, 1999) che fa parte della classe degli oppioidi con attività agonista verso i recettori κ e agonista parziale (per alcuni autori è un antagonista) verso i recettori μ . La parziale attività agonista ne limita gli effetti collaterali ma anche l'attività analgesica (Carrol et al., 1997).

Altri effetti che si sono riscontrati negli animali sono un'attività antitussiva, diminuzione dell'attività gastrointestinale, una limitata depressione respiratoria, diuresi, in alcuni casi attivazione del sistema muscolare, miosi e attività antagonista nei confronti degli altri oppioidi μ agonisti (Seymour and Duke-Novakovsky, 2007).

E' metabolizzato a livello del fegato ed escreto al livello renale (Seymour and Duke-Novakovsky, 2007).

Può essere somministrato per via intramuscolare sottocutanea o endovenosa (Adams, 1999).

Ha una potenza maggiore di quella della morfina, ma l'effetto analgesico è minore (Corletto, 2008).

E' utilizzato per dolori da lievi a moderati e come analgesia per interventi minori. La durata dell'analgesia nel cane e nel gatto è di circa 30-120 minuti, questo fa sì che siano richieste somministrazioni frequenti (Adams, 1999). Potenzia l'azione di sedativi e tranquillanti, mentre da solo non è un buon sedativo (Corletto, 2008).

Il butorfanolo nella pecora è utilizzato come sedativo e analgesico alle dosi di 0,05-0,5 mg kg⁻¹ IM (Tranquilli et al., 2007). Spesso questo farmaco è usato in protocolli che prevedono l'associazione di più farmaci come xylazina, acepromazina o diazepam, alle dosi di 0,05-0,2 mg kg⁻¹ IM o IV per potenziare l'azione sedativa (Hall et al., 2001).

E' stata valutata la sua potenza analgesica nei confronti di stimolazioni termiche e meccaniche ed è emerso che a dosaggi di 0.05, 0.1, 0.2 mg kg⁻¹ IV si è ottenuta analgesia solo nei confronti del primo tipo di stimolazioni. Nei confronti di stimolazioni meccaniche si è riscontrata analgesia solo a dosaggi superiori (0,4 mg kg⁻¹ IV) (Waterman et al., 1991).

Tra gli effetti collaterali sono stati segnalati alterazioni nel comportamento che si verificano per stimolazione del sistema nervoso centrale e possono mascherare gli effetti sedativi di questo farmaco (Fish et al., 2009).

In letteratura è segnalata la comparsa di atassia e disforia a dosaggi compresi tra 0,1 e 0,2 mg kg⁻¹ IV (Tranquilli et al., 2007), mentre altri autori riferiscono di episodi di eccitazione solo a dosaggi superiori a 0,2 mg kg⁻¹ IV (Waterman et al., 1991). Questo tipo di alterazioni si verifica meno frequentemente quando il farmaco è somministrato per via sottocutanea, cosa che permette anche di usare dosaggi più alti (0,5 mg kg⁻¹), con minime, se non nulle, ripercussioni a livello cardiocircolatorio e respiratorio e un effetto analgesico e sedativo che compare dopo 15 minuti dalla somministrazione (con il picco massimo a 30 minuti) e dura fino a 120 minuti per quanto riguarda l'analgesia, e 90 minuti per la sedazione (O'Hair et al., 1988).

Il butorfanolo è un analgesico sicuro da utilizzare negli animali sperimentali (Maduska et al., 1980). Alle dosi di 0,2 mg kg⁻¹ non sono state osservate variazioni nella tensione dei gas respiratori ematici (Waterman et al., 1991).

In uno studio dove si comparavano gli effetti sedativi e cardiopolmonari di varie premedicazioni (con solo midazolam, solo acepromazina, solo butorfanolo, midazolam e butorfanolo, midazolam e acepromazina) nella capra, si osservava che in tutti i gruppi gli effetti sul sistema cardiocircolatorio e respiratorio erano simili e vicini ai valori basali. Sia midazolam che acepromazina da soli hanno prodotto una sedazione efficace, invece il butorfanolo come unico agente sedativo non è stato efficace (Dzikiti et al., 2009).

Sempre nella pecora, somministrando butorfanolo alla dose di 0,5 mg kg⁻¹ IV come premedicazione per poi indurre e mantenere l'animale con tiletaminazolazepam (12 mg kg⁻¹ IV), si è ottenuta una buona anestesia per 25-50 minuti con, però, una diminuzione della portata cardiaca e della pressione arteriosa media e un incremento delle resistenze vascolari periferiche e una leggera acidosi respiratoria (Howard et al., 1990).

2.3.2. PENTAZOCINA NELLA PECORA

La pentazocina lattato è un oppioide con proprietà agoniste verso i recettori κ e parzialmente agoniste verso i μ e i δ (Mir et al., 2000; Walker et al., 2001). Il potere analgesico è metà di quello della morfina mentre è 5 volte superiore a quello della meperidina (Adams, 1999). Alcuni vantaggi che portano all'utilizzo della pentazocina come potente analgesico sono: non determina una sedazione profonda negli animali, ha minimi effetti collaterali a dosaggi usati per fornire analgesia e gli effetti tossici compaiono solo a dosi molto alte (Mir et al., 2000).

Questo farmaco è un potente analgesico con minimi effetti cardiovascolari e depressanti sul sistema respiratorio (Tranquilli et al., 2007). Ad elevate dosi causa un aumento della pressione arteriosa e della frequenza cardiaca (Fish et al., 2009).

Quando somministrato per via parenterale è necessario aumentare la dose da tre a sei volte rispetto a quella della morfina per avere gli stessi effetti analgesici (Fish et al., 2009).

La somministrazione intramuscolare è efficace quanto quella intravascolare e, per fornire un'adeguata analgesia negli animali domestici, sono riportati dosaggi pari a 0,4-4,0 mg kg⁻¹ che durano per 1-6h (Mir et al., 2000).

Per quanto riguarda la farmacocinetica della pentazocina, dopo un'iniezione intramuscolare con un dosaggio pari a 3 mg kg⁻¹ nella pecora, la concentrazione plasmatica picco è raggiunta dopo 15 minuti dalla somministrazione e l'emivita plasmatica è circa 51 min (Mir et al., 2000).

Studi condotti nel cane hanno evidenziato che dosi di 5mg/kg deprimono la frequenza respiratoria (Ahlgren e Stephen, 1966). L'effetto più significativo della pentazocina in questi animali, però, è quello sulla pressione arteriosa sistemica; si assiste infatti dopo somministrazione alla caduta della pressione arteriosa media del 18%, caduta che è transitoria e si verifica in meno di un minuto (Adams, 1999).

Tra gli effetti collaterali è stata segnalata anche disforia, sempre legata ad alti dosaggi. Tuttavia dosaggi pari a 1-3 mg kg⁻¹ sono largamente usati in medicina veterinaria per fornire analgesia per 1-3 ore (Hall et al., 2001).

2.4. PROPOFOL

Il propofol, come precedentemente esposto, ha un rapido metabolismo, una veloce clearance plasmatica e non determina accumulo (Carrol et al., 1998). Questo permette di avere rapido raggiungimento dell'effetto, breve durata d'azione e veloce risveglio, proprietà che rendono questo farmaco particolarmente adatto all'utilizzo nei ruminanti (Prassinis et al., 2005). Oltre che per l'induzione, le sue caratteristiche farmacocinetiche lo rendono un farmaco adatto anche per l'uso tramite infusione continua endovenosa per il mantenimento dell'anestesia (Correia and Nolan, 1996; Carrol et al., 1998).

Per quando riguarda l'utilizzo come agente d'induzione, il propofol determina rapidamente ipnosi con minima eccitazione (Carrol et al., 1998). Infatti, ad un dosaggio compreso tra 3-4 mg Kg⁻¹ IV in capre premedicate con detomidina e butorfanolo e non premedicate, si è ottenuta una rapida e tranquilla induzione (Carrol et al., 1998; Prassinis et al., 2005; Reid et al., 1993; Pablo et al., 1997). Dosaggi simili (3 mg Kg⁻¹ IV) o inferiori (2 mg Kg⁻¹ IV) in pecore non premedicate hanno permesso di ottenere lo stesso effetto (Lin et al., 1997; Alon et al., 1993).

La rapidità di induzione è una caratteristica importante che riduce il rischio di incorrere in eventi avversi come rigurgito, timpanismo o attività mioclonica involontaria, che sono particolarmente frequenti nei ruminanti (Correia et al., 1996). Solo in un caso è stata riportata la presenza di rigurgito, in due capre anesteziate con propofol (3-4 mg Kg⁻¹ IV) e mantenute con alotano (Reid et al., 1993). Ai dosaggi esposti precedentemente questo problema, come anche la presenza di timpanismo o di scialorrea, non è stato associato alla somministrazione di propofol utilizzato da altri autori (Prassinis et al., 2005; Carrol et al., 1998). La presenza di attività mioclonica si è osservata in studi caratterizzati da una dose più alta (5 mg Kg⁻¹ IV) (Pablo et al., 1997). Altri autori hanno riscontrato opistotono e spasmi muscolari dopo la somministrazione di 4 mg Kg⁻¹ di propofol IV in una pecora su sette. Altri ancora, usando dosi più basse (2-3 mg Kg⁻¹ IV), non hanno osservato questi eventi (Prassinis et al., 2005; Carrol et al., 1998; Reid et al., 1993). Un altro effetto collaterale legato alla somministrazione di questo farmaco in tutte le specie animali è l'apnea post-induzione. Questa è stata osservata soprattutto a dosaggi più alti (4-5 mg Kg⁻¹ IV) e solo in rare occasioni (Pablo et al., 1997).

Per quanto riguarda i parametri cardiovascolari, dopo la somministrazione si è osservata, in tutti i casi, una diminuzione della pressione arteriosa, che poteva essere accompagnata o meno da un aumento della frequenza cardiaca (Prassinis et al., 2005), nel tentativo di compensare, almeno parzialmente, l'effetto ipotensivo (Upton et al., 2009). Oltre a questo, la somministrazione di propofol può determinare depressione dell'attività miocardica, con diminuzione della contrattilità e del consumo di ossigeno da parte del miocardio (Zheng et al., 2003). La diminuzione di pressione arteriosa è il risultato di una combinazione di eventi, quali la riduzione della contrattilità miocardica, l'inibizione dell'attività simpatica e la diminuzione delle resistenze periferiche (Zheng et al., 2003). Infondendo propofol direttamente nell'arteria coronarica sinistra in pecore non anestetizzate, alla velocità di $0,2 \text{ mg Kg}^{-1}\text{minuto}^{-1}$ si è constatata una diminuzione della contrattilità miocardica e della gittata cardiaca e un aumento della frequenza cardiaca, mentre la pressione arteriosa media, la pressione venosa centrale e la portata cardiaca rimanevano inalterate (Laurence et al., 2004). Questo dimostra che l'effetto ipotensivo causato dal propofol è determinato, per la maggior parte, dalla perdita di tono della muscolatura vasale periferica, anche se è in dubbio se questo sia un effetto diretto del propofol sui vasi o sia mediato a livello centrale (tramite l'inibizione dell'attività simpatica) (Zheng et al., 2003). La depressione dell'attività miocardica, invece, è un effetto mediato dalla concentrazione del farmaco presente direttamente nel miocardio (Zheng et al., 2003). La portata cardiaca, e quindi la perfusione degli organi a livello periferico, non sembrano essere compromesse dopo la somministrazione di questo farmaco (Upton et al., 2009).

La durata e la gravità di questi effetti cardiovascolari possono essere minimizzati dalla riduzione della velocità di iniezione, che permette di ridurre la concentrazione plasmatica picco (Zheng et al., 1998).

Il propofol ha delle ripercussioni anche a livello del sistema respiratorio. La depressione respiratoria è accompagnata, a livello arterioso, da una transitoria diminuzione della pressione parziale di ossigeno e della saturazione dell'emoglobina (se l'animale respira aria atmosferica) e da un aumento della pressione parziale di anidride carbonica (Upton et al., 2009).

La depressione della funzionalità respiratoria non sembra avere una correlazione con la velocità di iniezione, il che dimostrerebbe che essa è funzione della concentrazione di propofol a livello del sistema nervoso centrale e non della

concentrazione arteriosa (Zheng et al., 1998) ed è proporzionale alla profondità dell'anestesia (Upton et al., 2009).

Il propofol causa anche diminuzione del flusso ematico cerebrale dose dipendente, che è associata alla diminuzione della richiesta di ossigeno da parte del tessuto nervoso piuttosto che alla vasocostrizione (Upton et al., 2009).

La diminuzione del flusso ematico cerebrale è indipendente dalle variazioni della pressione arteriosa media e il rapporto tra flusso ematico cerebrale e richiesta di ossigeno da parte del tessuto nervoso sono preservate sia durante la sedazione che nell'anestesia profonda (Ludbroock et al., 1996).

A dosaggi compresi tra 1-4 mg Kg⁻¹ IV è stato dimostrato, nella pecora, che le variazioni a livello cardiovascolare e respiratorio sono dose dipendenti (Prassinis et al., 2005) e non sono di gravità tali da arrecare un effettivo danno all'animale (Upton et al., 2009).

Un piano anestetico adeguato è caratterizzato dalla presenza di un buon rilassamento muscolare, da un debole riflesso palpebrale e dalla mancanza di movimenti spontanei (Carrol et al, 1998; Ali et al., 1993).

In questo senso, la combinazione di un bolo di propofol (pari a 4 mg Kg⁻¹ IV) seguita da una infusione continua relativamente veloce (0,5-0,3 mg Kg⁻¹minuto⁻¹ IV), sempre nella pecora, risulta nel rapido ottenimento di un piano anestetico adeguato a chirurgie cutanee superficiali (Correia et al., 1996; Lin et al., 1997). Velocità inferiori (pari a 0,15 mg Kg⁻¹minuto⁻¹ IV) hanno determinato, invece, una profondità di anestesia inadeguata (Ali et al., 1993). A questi dosaggi, durante l'infusione continua, la funzione cardiocircolatoria non è stata compromessa in modo significativo, con la sola comparsa di transitorie bradicardia e ipotensione subito dopo l'induzione, stabilizzatesi, poi, durante l'infusione (Correia et al, 1996, Carrol et al., 1998). Riguardo la frequenza respiratoria, invece, si è osservata una diminuzione subito dopo l'induzione e una tendenza a scendere in base al livello di profondità dell'anestesia (Carrol et al., 1998).

Un'infusione continua di propofol (0,1-0,6 mg Kg⁻¹minuto⁻¹ IV) senza bolo di carico ha determinato comunque depressione dell'attività contrattile miocardica e della pressione arteriosa classificate, tuttavia, come minime o moderate variazioni, e comunque minori di quelle ottenute con boli più rapidi. I parametri

cardiovascolari, una volta cessata l'infusione, rientrano nella normalità in breve tempo (Zheng et al., 2003).

Nei ruminanti il risveglio riveste una grossa importanza, ed è bene che l'animale venga tenuto in decubito sternale fino a che non sia in grado di mantenere la testa sollevata da terra (Fish et al., 2009). Riuscire ad ottenere un rapido risveglio è molto importante, in quanto diminuisce il rischio di avere timpanismo e rigurgito e, quindi, polmonite da aspirazione (Prassinis et al., 2005); il decubito laterale o dorsale, inoltre, è associato nei ruminanti ad una diminuzione della pressione parziale di ossigeno a livello arterioso (PaO_2) (Carrol et al., 1998). In tutte le occasioni esposte precedentemente si è osservato, una volta cessata l'anestesia, che il tempo di risveglio (calcolato dal momento in cui i soggetti riacquistavano il riflesso di deglutizione al momento in cui riuscivano a stare in stazione) è stato particolarmente breve e privo di eventi avversi (Carrol et al., 1998; Lin et al., 1997; Prassinis et al., 2005; Pablo et al., 1997).

Gli autori sono, quindi, d'accordo nell'attribuire al propofol diversi vantaggi, tra cui: induzione veloce e tranquilla, intubazione agevole, buon rilassamento muscolare, possibilità di cambiare facilmente la profondità dell'anestesia, parametri cardiovascolari accettabili, risveglio tranquillo e privo di eventi collaterali (Carrol et al., 1998).

Oltre all'utilizzo nell'induzione e nel mantenimento dell'anestesia, il propofol può essere usato anche come agente sedativo tramite la somministrazione di boli ripetuti (Upton et al., 2009) o di una infusione continua. Nel primo caso, comparando la sedazione ottenuta con tre livelli di dose (1, 2 e 4 mg Kg^{-1} IV), si è constatato che la profondità era strettamente dose dipendente, che il dosaggio più basso non determinava perdita di coscienza ma solo uno stato di sonnolenza e che la durata era breve e variabile con alcuni soggetti che si risvegliavano dopo cinque minuti dalla perdita di coscienza (Upton et al., 2009). Come precedentemente esposto il risveglio era rapido e tranquillo in tutti e tre i livelli di dose e, durante la sedazione, si è riscontrata bradicardia, ipotensione e depressione respiratoria dose dipendente, ma di entità minima e senza conseguenze per gli animali (Upton et al., 2009). Anche la temperatura rettale era stata monitorata, e si è constatata una diminuzione significativa dopo la somministrazione, probabilmente causata dalla perdita di calore in seguito alla vasodilatazione (Upton et al., 2009).

Per quanto riguarda la sedazione ottenuta con infusione continua nella pecora, a differenza di quello che succede in medicina umana, nei piccoli animali

(Glowasky and Wetmore, 1999) e nel cavallo (Brosnan and Steffey, 2009), non ci sono molti dati in letteratura, ma si fa riferimento solo al mantenimento in anestesia generale (quindi la loading dose che precede l'infusione è somministrata a dosaggi pari a quelli utilizzati in induzione) o alla sedazione con bolo unico di propofol (Upton et al., 2009). Alcuni autori hanno riscontrato, tuttavia, che una infusione di propofol ($0,2 \text{ mg kg}^{-1}\text{min}^{-1}$ IV) senza bolo di carico e senza stimolazione chirurgica ha determinato un piano che andava da profonda sedazione a leggera anestesia (Ludbrook et al., 1999a).

3. VALUTAZIONE DELLA SEDAZIONE

Tutti gli agenti anestetici hanno effetti più o meno depressanti sul sistema cardiocircolatorio o respiratorio. Per questo, è necessario avere un metodo di valutazione che permetta di stimare la profondità della sedazione, in modo da adeguare la quantità di farmaco somministrata al paziente ad un livello che sia il minimo richiesto per la particolare procedura (Whelan and Flecknell, 1992). Negli animali da laboratorio la valutazione dell'effetto provocato dalla dose di farmaco somministrata permette di ottimizzare la qualità della distribuzione del farmaco e di diminuire i costi legati all'anestesia, inoltre, diminuisce la probabilità di mortalità legata al sovradosaggio del farmaco (se la sedazione si approfondisce troppo) ed evita che il soggetto percepisca disagio o che gli eventuali stimoli nocicettivi legati alla procedura raggiungano il piano cosciente (se il piano si alleggerisce troppo) (Bruhn et al., 2006; Whelan and Flecknell, 1992). Oltre al benessere dell'animale, ci sono altre ragioni che inducono l'anestesista a valutare la profondità di sedazione: una dose eccessiva di farmaco può interferire con lo scopo della procedura, infatti, essendo la maggior parte degli effetti dose dipendenti, diminuire al massimo la quantità di farmaco porta ad avere una minore interferenza con la raccolta dei dati sperimentali. Inoltre, poiché numerosi studi richiedono che l'animale sia sedato o anestetizzato ripetutamente nel tempo e che la profondità di sedazione sia costante e riproducibile durante tutto il periodo di studio, è necessaria la messa a punto di un sistema di standardizzazione affidabile e riproducibile. Quest'ultimo diventa, poi, di fondamentale importanza nella comparazione di diversi protocolli anestetici e sedativi (Whelan and Flecknell, 1992).

L'adeguatezza di un piano anestetico/sedativo, nella pecora, può essere valutata dalla assenza di movimenti spontanei, dal rilassamento muscolare, da segni oculari come la posizione o l'apertura degli occhi, dalla risposta ad un eventuale stimolazione esterna e dalla risposta cardiovascolare e respiratoria (Carrol et al., 1998). Idealmente, i parametri monitorati dovrebbero rispondere rapidamente ai cambiamenti di profondità della sedazione, in modo da dare all'anestesista la possibilità di cambiare la velocità di somministrazione del farmaco prima che il piano anestetico diventi troppo profondo o troppo superficiale (Tranquilli et al., 2007). Inoltre, il monitoraggio dovrebbe essere fatto in maniera costante, registrando tutti i parametri ad intervalli regolari di 5 minuti (Tranquilli et al., 2007). Durante la valutazione del piano anestetico l'attenzione dovrebbe essere

rivolta soprattutto a tre sistemi: cardiovascolare, respiratorio, nervoso (Tranquilli et al., 2009).

3.1. RILEVAMENTI CLINICI

Movimenti spontanei o riflessi in risposta ad uno stimolo indicano un inadeguato piano anestetico. L'animale può muovere gli arti o la testa o può masticare o deglutire. La contrazione esofagea può essere seguita da rigurgito (Fish et al., 2009).

Il riflesso palpebrale, che è evocato dalla stimolazione delle ciglia o del canto mediale dell'occhio, diminuisce con l'approfondirsi della sedazione ed è assente in anestesia (Fish et al., 2009). Lo stesso per quanto riguarda la posizione dell'occhio, che dapprima è centrale, poi ruota ventro-medialmente per poi ritornare centrale in piani anestetici particolarmente profondi (Fish et al., 2009) (Figura 3.1). Questo stadio si riconosce anche dall'assenza di riflesso corneale oltre che palpebrale e da una profonda depressione cardiovascolare (Fish et al., 2009).

Il riflesso corneale dovrebbe essere sempre presente; questo comunque non dovrebbe essere evocato per il rischio di provocare danni corneali (Fish et al., 2009).

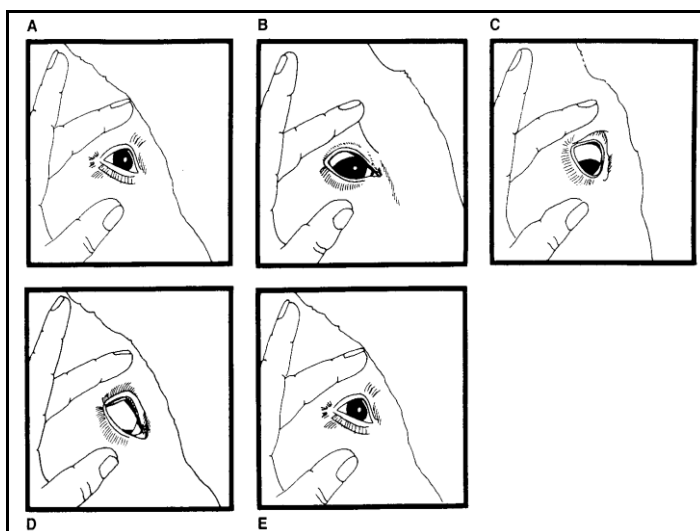


Figura 3.1

Posizione dell'occhio in sedazione/anestesia. L'occhio si mantiene dapprima centrale (A) in sedazione leggera poi, con l'approfondirsi del piano anestetico, si porta parzialmente (B) e poi completamente (C,D) ventromediale. In piani anestetici particolarmente profondi ritorna in posizione centrale (E).

3.2. PARAMETRI CARDIOVASCOLARI E RESPIRATORI

I parametri cardiovascolari, come anche la frequenza respiratoria, possono essere dei validi indicatori della profondità dell'anestesia anche se questi sono soggetti a numerose variabili tra cui l'età e le condizioni fisiche del soggetto ed i farmaci utilizzati. Infatti, un incremento nella frequenza cardiaca o della pressione arteriosa sono indici di un piano anestetico troppo superficiale (Fish et al., 2009).

I valori cardiovascolari e respiratori fisiologici dei piccoli ruminanti sono riassunti in tabella 3.1.

Tabella 3.1: parametri cardiocircolatori e respiratori nei piccoli ruminanti

	Pecora	Capra
Frequenza respiratoria (atti/min)	32-54	24-37
Volume tidalico (ml/kg)	7	11
Frequenza cardiaca (battiti/min)	80-104	73-90
Pressione arteriosa sistolica/diastolica,media (mmHg)	125/96 109	105/70 86

Fonte: Fish et al., 2009 modificata

Le principali variabili che sono usate per monitorare il sistema cardiovascolare sono: la frequenza cardiaca (FC), la pressione arteriosa (PA), il colore delle mucose e il tempo di riempimento capillare (TRC) (Fish et al., 2009).

La frequenza cardiaca può essere monitorata attraverso la palpazione digitale del polso arterioso periferico, oppure può essere misurata dall'elettrocardiogramma (ECG) o rilevata tramite il trasduttore della pressione arteriosa diretta (Tranquilli et al., 2007).

La pressione arteriosa può essere monitorata in modo indiretto (pressione non invasiva, NIBP) o diretto (pressione invasiva, IBP). La pressione indiretta può essere valutata semplicemente tramite palpazione del polso arterioso periferico, ma questo metodo è altamente soggettivo e molto spesso fuorviante (Fish et al.,

2009). Le arterie periferiche facilmente palpabili si trovano nella parte caudo-mediale dell'arto anteriore, soprattutto a livello del carpo, e nell'arto posteriore sulla faccia dorsale del metatarso (Hall et al., 2001). La maggior parte degli anestetici deprimono la funzione cardiovascolare diminuendo la funzionalità del cuore come pompa. Una diminuzione della pressione di polso, quindi, è indicativa di un piano anestetico troppo profondo, che può essere caratterizzato anche da un aumento del tempo di riempimento capillare e da un impallidimento delle mucose (Tranquilli et al., 2007). Altre rilevazioni indirette possono essere effettuate usando il metodo oscillometrico o tramite Doppler. (Fish et al., 2009). Entrambi i metodi si basano sull'occlusione del flusso sanguigno su una estremità del corpo tramite insufflazione di un manicotto e il rilevamento della ricomparsa del flusso durante lo sgonfiamento della cuffia (Seymour and Duke-Novakovsky, 2007). I siti che meglio si prestano a queste rilevazioni sono la coda e gli arti a livello dell'arteria metatarsale dorsale o dell'avambraccio (Briganti et al., 2005). La larghezza ideale del manicotto dovrebbe essere il 40% della circonferenza dell'arto o della coda. Se sono troppo larghe è possibile avere dei dati pressori sottostimati; al contrario manicotti troppo stretti tendono a sovrastimare la pressione (Seymour and Duke-Novakovsky, 2007). Il metodo oscillometrico si basa sulla rilevazione delle oscillazioni prodotte dalle variazioni di diametro del vaso sulla cuffia occludente (figura 3.2). Quando la pressione della cuffia supera la pressione sistemica le oscillazioni cessano. Durante lo sgonfiamento della cuffia, la pressione che corrisponde alla ricomparsa della pulsazione è la pressione arteriosa sistolica. L'ampiezza delle pulsazioni aumenta fino al raggiungimento della pressione arteriosa media e, infine, le oscillazioni si riducono fino al raggiungimento della pressione arteriosa diastolica, al di sotto della quale la cuffia non percepisce più pulsazioni (Santilli e Gerboni, 2009).

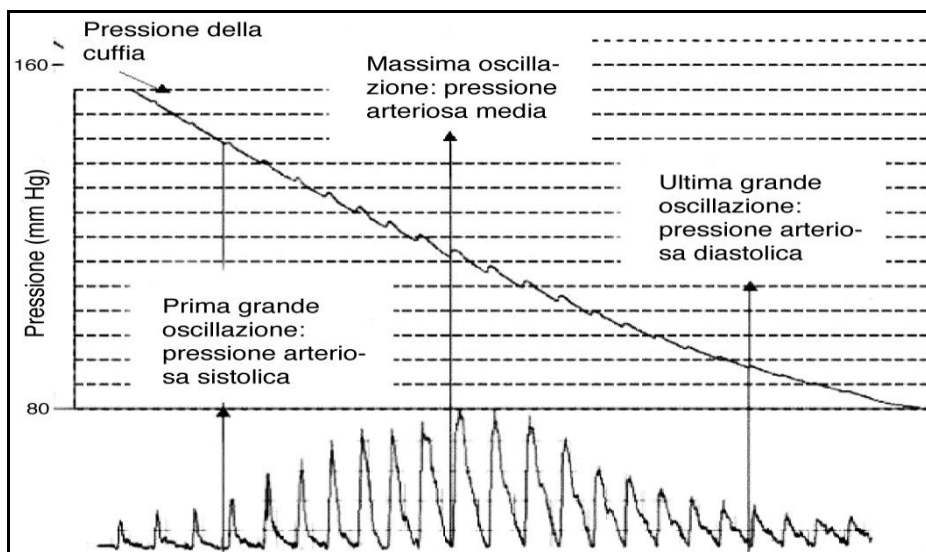


Figura 3.2 Illustrazione del funzionamento del metodo oscillometrico per la rilevazione della pressione arteriosa.

Il metodo Doppler si basa sul posizionamento di una sonda ad ultrasuoni a livello dell'arteria distalmente alla cuffia occludente. Gli ultrasuoni emessi riflettono il movimento del flusso sanguigno e la frequenza di questi è convertita in segnale sonoro. La pressione che corrisponde alla ricomparsa del segnale sonoro, durante lo sgonfiamento della cuffia, corrisponde, normalmente, alla pressione arteriosa sistolica. La pressione diastolica è difficilmente apprezzabile con questo metodo. Se la sonda non è posizionata in modo corretto si possono avere letture errate (Fish et al., 2009). La pressione diretta può essere rilevata inserendo un catetere in un'arteria periferica che viene poi collegato ad un trasduttore di pressione connesso a sua volta ad un monitor. Il catetere è connesso al trasduttore tramite un tubo di raccordo a bassa compliance, riempito di soluzione eparinata (Seymour and Duke-Novakovsky, 2007). Le arterie presenti sulla faccia esterna del padiglione auricolare sono facilmente cateterizzabili, nella pecora, e possono essere usate per la misurazione invasiva (Hall et al., 2001).

Il metodo invasivo di rilevazione è il “*gold standard*”, capace di fornire i valori più prossimi a quelli reali. È, tuttavia, una tecnica che richiede particolari strumentazioni e una buona familiarità dell'anestesista con la cateterizzazione arteriosa, soprattutto nei pazienti di piccola taglia. C'è il rischio, inoltre, di causare un'ematoma o una infezione durante la procedura d'incannulamento (Seymour and Duke-Novakovsky, 2007). I metodi non invasivi hanno sempre un'accuratezza ed una precisione inferiori, condizionate da vari fattori e non riescono rilevare la pressione in modo continuo (Briganti et al., 2005).

Il sistema respiratorio può essere valutato monitorando la frequenza respiratoria e il volume tidalico (Tranquilli et al., 2007). Il volume tidalico può essere valutato, se l'animale è intubato e collegato ad un sistema di respirazione, osservando quanto la borsa respiratoria si svuota durante l'inspirazione o, in modo più accurato, con un monitor di spirometria (Tranquilli et al., 2007). La frequenza respiratoria si può rilevare, in assenza di monitor, dall'osservazione dei movimenti toraco-addominali o della borsa respiratoria se l'animale è collegato ad un sistema respiratorio (Fish et al., 2009). Con l'approfondirsi della sedazione ci si aspetta una diminuzione del volume tidalico e della frequenza respiratoria (Tranquilli et al., 2007).

4. OBIETTIVI DELLA TESI

Nel presente studio un gruppo di pecore facente parte di una sperimentazione di chirurgia vascolare, è stato sottoposto a sedazione per procedure di ecocardiografia di controllo dopo aver subito un intervento chirurgico. L'intervento poteva essere l'inserimento di uno *stent* vascolare in aorta (*stenting*), o un intervento di controllo, senza posizionamento dello stesso (*shame*). Per la sedazione è stato scelto un protocollo che prevedeva l'infusione continua di propofol a dosaggi sub-anestetici preceduti, in premedicazione, da tre possibili combinazioni di farmaci. Le tre diverse premedicazioni sono state: midazolam (che è stato considerato il gruppo di controllo), midazolam e butorfanolo, midazolam e pentazocina.

Gli obiettivi del lavoro sono stati:

- valutare la qualità dei singoli protocolli e svolgere un'analisi comparativa volta ad evidenziare le differenze esistenti tra i tre gruppi. Per valutare la sedazione sono stati considerati i parametri cardiovascolari e respiratori, la profondità della sedazione (stimata tramite rilevazione fisiche, tabella 5.2) la VAS (*visual analogue scale*, paragrafo 5.4), i tempi di risveglio e alcuni parametri ecocardiografici (stroke volume, portata cardiaca e frazione di accorciamento);
- rilevare un eventuale effetto di riduzione del consumo di propofol totale (*sparing effect*) da parte dell'oppioide agonista dei recettori κ e agonista parziale dei recettori μ ;
- eseguire una valutazione comparativa tra pressione arteriosa invasiva e non invasiva (rilevata sull'arto anteriore e posteriore).

5. MATERIALI E METODI

Il progetto di ricerca, dal titolo “impianto di uno stent metallico in sede istmica in modello animale ovino”, previa comunicazione ai sensi dell’art.7 del decreto legislativo 116/92, si è svolto presso il Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie della facoltà di Medicina Veterinaria di Padova.

Per questo studio sono state utilizzate 6 pecore, una di razza Alpagota e le restanti di razza Bergamasca, che dovevano essere sedate per poter effettuare le ecocardiografie di controllo mensili per un totale di 21 sedazioni. Tra una procedura e l’altra è sempre trascorso un tempo superiore a 30 giorni, in modo da essere sicuri della completa metabolizzazione ed eliminazione dei farmaci usati. Tutti gli animali utilizzati sono di sesso femminile, non gravidi, di meno di 6 mesi d’età all’arrivo in stabulario (dai 2 ai 4 mesi con una media di $3,5 \pm 0,8$ mesi) e del peso medio di $43,4 \pm 7,9$ kg (33,6-55,6kg). Tutti i soggetti sono stati sottoposti a trattamento anti-elmintico con Hapadex (Intervet, Italia) alla dose di 4ml/10kg circa 10 giorni prima del loro utilizzo.

5.1. STABULAZIONE DEGLI ANIMALI

Gli animali sono stabulati in gruppi composti da non più di sei capi per box presso il ricovero animali del Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie dell’Università di Padova. All’interno del box le pecore sono tenute su lettiera costituita da paglia con libero accesso a cibo ed acqua. L’alimentazione consiste di mangime concentrato per ovini ad una quantità pari a 400 etti/capo e fieno somministrato due volte al giorno (mattina e pomeriggio).

5.2. PROTOCOLLO UTILIZZATO

Per indurre uno stato di tranquillizzazione nella pecora sono stati utilizzati tre protocolli diversi in fase di premedicazione: midazolam (Midazolam-Hameln, Hospira, Italia) e butorfanolo (Dolorex, Intervet, Italia) (gruppo MB, n=8), midazolam e pentazocina (Talwin, Hospira, Italia) (gruppo MP, n=7) e solamente midazolam (gruppo M, n=6) alle dosi riportate nella tabella 5.1.



Figura 5.1 Farmaci somministrati nei tre gruppi (MB, MP, M).

Tabella 5.1: Dosaggi e farmaci somministrati nei tre gruppi (MB, MP, M).

	Midazolam (mg kg⁻¹ IV)	Butorfanolo (mg kg⁻¹ IV)	Pentazocina (mg kg⁻¹ IV)
Gruppo MB (n=8)	0,2	0,1	–
Gruppo MP (n=7)	0,2	–	1,5
Gruppo M (n=6)	0,2	–	–

Allo scopo di valutare in maniera più obiettiva possibile i diversi protocolli, lo studio è stato condotto “in cieco” e quindi l’anestesista era ignaro del tipo di premedicazione somministrata a ciascun animale. Per quanto riguarda il termine “cieco” (anche detto "mascheramento"), questo si riferisce al processo che impedisce di identificare il protocollo che di volta in volta il soggetto riceve.

Esistono diversi livelli di studi in cieco:

- Studio in cieco (single-blind trial): soltanto un gruppo (per esempio solo i partecipanti o solo coloro che gestiscono il trattamento) non conosce il protocollo assegnato.
- Studio in doppio cieco (double-blind trial): sia lo sperimentatore sia il partecipante non conoscono il tipo di trattamento assegnato. Questo fa sì che la valutazione del medico non sia influenzata dalla conoscenza del trattamento somministrato.
- Studio in triplo cieco (triple-blind trial): gli sperimentatori, i partecipanti e coloro che valutano i risultati non conoscono il tipo di trattamento assegnato.

Le premedicazioni sono state, quindi, preparate da un operatore diverso dall'anestesista e il volume totale caricato è stato portato a 5 ml aggiungendo della soluzione fisiologica allo 0,9%.

A seguire, nella pecora, è stato indotto uno stato di sedazione più profondo tramite infusione continua di propofol (Propofol, Esteve, Italia), mediante pompa-siringa (Fresenius, Pilotec, Italia), alla velocità di $0,1 \text{ mg kg}^{-1}\text{minuto}^{-1}$ IV preceduta da un bolo di carico di $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ IV. Inoltre, da protocollo, è stata prevista la possibilità di somministrare dei boli aggiuntivi di propofol sempre per via endovenosa alla dose di $0,25 \text{ mg kg}^{-1}$ per approfondire lo stato di sedazione qualora l'infusione non fosse stata sufficiente a mantenere la pecora sedata in modo adeguato.

5.3. PROCEDURA OPERATIVA

5.3.1. PREMEDICAZIONE

Essendo le pecore animali gregari, durante la sperimentazione sono state tenute insieme nel box e sono state separate solo all'ultimo momento per evitare un eccessivo stress in fase di preparazione e si peggiorasse, quindi, la qualità della sedazione. Alcuni giorni prima della procedura, nello stabulario i soggetti sono stati pesati e si è effettuata la tricotomia della finestra ecocardiografica.

Successivamente le pecore sono state messe a digiuno per ventiquattro ore con libero accesso all'acqua fino al momento della premedicazione. Il giorno dell'esame ecocardiografico, in sala si è proceduto con la tricotomia e la disinfezione chirurgica di entrambe le orecchie. In seguito si è guadagnato l'accesso venoso e arterioso dalle vene e arterie auricolari con l'inserimento di agocannule della misura adeguata, che sono state poi lavate con soluzione eparinata (10 U.I. ml⁻¹). Prima di procedere con la sedazione gli animali sono stati sottoposti a visita preanestetica durante la quale sono state eseguite le rilevazioni di temperatura rettale (T°), frequenza cardiaca (hr) e respiratoria (rr) e pressione arteriosa sistolica, diastolica e media (sibp, dibp, mibp) (valori basali, T = 0). terminate queste manualità l'anestesista, ignaro dei farmaci con cui è stata caricata la siringa, ha iniettato la premedicazione tramite iniezione nel catetere endovenoso.

5.3.2. ECOCARDIOGRAFIA

Lo stato di sedazione profonda è stato indotto nella pecora, dopo 15 minuti dalla premedicazione, tramite infusione continua di propofol con pompa-siringa preceduta da bolo di carico somministrato sempre per mezzo di questa. Contemporaneamente è stata collegata, anche, un'infusione di fluidi (soluzione fisiologica 0,9% alla velocità di 5 ml kg⁻¹h⁻¹) che è stata interrotta solo al termine della procedura. La pecora, quindi, è stata posizionata sul tavolo ecografico in decubito laterale destro e le sono stati applicati gli elettrodi per l'elettrocardiogramma. A circa metà della procedura la pecora è stata girata in decubito laterale sinistro senza interrompere l'infusione. Durante l'infusione, vista la superficialità del piano anestetico, l'animale non è stato intubato e ha respirato aria ambientale per tutta la durata della procedura.

5.3.3. RISVEGLIO

Al termine della procedura, dopo aver interrotto l'infusione di propofol, il soggetto è stato posizionato a terra in decubito sternale fino al recupero spontaneo della stazione quadrupedale. Una volta riacquistata la stazione, dopo che l'anestesista ha valutato le condizioni dell'animale ed ha ritenuto che questo

potesse essere riaccompagnato in stabulario, sono stati rimossi i cateteri venosi e arteriosi e la pecora è stata riportata nel box di stabulazione.

5.4. MONITORAGGIO E STRUMENTAZIONE

I pazienti sono stati monitorati dalla somministrazione della premedicazione fino al termine dell'infusione di propofol utilizzando il monitor Cardiacap II (Datex Ohmeda, Helsinki, Finland). I dati, presi di continuo, sono stati trascritti ogni cinque minuti in fogli di lavoro Excell appositamente preparati (scheda I, scheda II, scheda III e scheda Pressioni) (rispettivamente figura 5.2, 5.3, 5.4 e 5.5).

SCHEDA I									
Sheep:				Weight Kg					
Gauge		Time		Localization		Gauge		Time Localization	
IV Catheter:					Arterious Line:				
Premedication:			Route		Time				
			IV						
<input type="checkbox"/> EXCITATION				<input type="checkbox"/> PERDITA STAZIONE			TIME		
TIME	T _x	S	IBP		HR	RR			
	T ₀		D	M					
	T _{5'}								
	T _{10'}								
	T _{15'}								

Figura 5.2 Scheda I dove vengono riportate le rilevazioni eseguite in premedicazione.

SCHEDA II																							
Weight Kg		PROPOFOL:		Loading dose 0,5 mg/Kg → 0 ml		CRI 0,1 mg/Kg/min → 0 ml/h		Adjunctive boluses 0,25 mg/Kg → 0 ml															
START INFUSION										Absent		Present		DEGLUTIZIONE									
										3	2	1	0	2	1	0	2	1	0	1	0	SCIALORREA	MASTICAZIONE
TIME	T	IBP		S	HR	RR	Spontaneous movements				Propofol Boluses	Blinking	Eye position	Jaw Tone	Auditory Respons	SCIALORREA		MASTICAZIONE		DEGLUTIZIONE			
		D	M																				

Figura 5.3 Scheda II dove vengono riportate le rilevazioni eseguite durante l'infusione continua di propofol.

SCHEDA III	
STOP PROPOFOL	Time
1 st Spontaneous movement	
Keep head raised	Tentativi
Keep station	

Figura 5.4 Scheda III dove vengono riportate le rilevazioni eseguite durante la fase di risveglio.

PRESSIONI									
TIME		ANTERIORE			POSTERIORE			ANTERIORE	
h	m	NIBP		S	NIBP		S	NIBP	
		D	M		D	M		D	M

Figura 5.5 Scheda Pressioni dove vengono riportate le rilevazioni di pressione arteriosa non invasiva eseguite durante l'infusione continua di propofol.

La pressione arteriosa è stata monitorata sia per via diretta che indiretta. Per la misurazione della pressione indiretta sistolica, diastolica e media mediante metodo oscillometrico è stato usato un manicotto insufflabile di dimensioni adeguate (di larghezza pari a circa il 40% della circonferenza dell'arto) applicato alternativamente sull'arto anteriore (a livello dell'avambraccio) e posteriore (distalmente al garretto). Sono state prese consecutivamente tre rilevazioni dall'arto anteriore e tre dal posteriore fino ad ottenere almeno due gruppi di rilevazioni per arto a seconda della durata della procedura e sono state riportate in un foglio Excell a parte, appositamente allestito (figura 5.5).

Per la misurazione della pressione arteriosa invasiva è stata utilizzata un'agocannula del tipo over-the-needle in teflon (Delta Ven 1 e 2, Delta Med Medical Devices, Italia) del diametro di 20G o 22G (e quindi della lunghezza, rispettivamente, di 32 e 25 mm) a seconda delle dimensioni dei vasi. Il catetere è

stato collegato, mediante l'interposizione di un breve tubo di raccordo a bassa compliance, ad un trasduttore di pressione (TruWave Disposable Pressure Transducers, Edward Lifesciences, Svizzera) dotato di un rubinetto a tre vie e valvola a flusso rapido, che, a sua volta, era collegato mediante un cavo elettrico al monitor. Un sistema di lavaggio continuo del catetere, formato da una sacca di soluzione fisiologica 0,9% contenuta in un apposita spremi-sacca (Infusable Pressure Infusor, Vital Signs UK) ne impediva l'ostruzione causata dall'eventuale formazione di piccoli coaguli. Quando la pressione veniva collegata e ogni volta che veniva modificata la posizione del soggetto il sistema veniva tarato facendo lo zero con il trasduttore di pressione posizionato all'altezza del cuore.

In premedicazione sono stati monitorati i seguenti parametri: frequenza respiratoria (rr) tramite l'osservazione delle escursioni toraciche; frequenza cardiaca (fr), pressione arteriosa diretta sistolica (sibp), diastolica (dibp) e media (mibp) tramite il trasduttore della pressione invasiva collegato al catetere endoarterioso. I dati sono stati presi prima della somministrazione della premedicazione (valori basali, T=0) e per 15 minuti da questa, ad intervalli di 5 minuti (t=5, 10, 15) e sono stati trascritti in un foglio di lavoro Excell (scheda I, figura 5.2). Contemporaneamente, nella stessa scheda, è stata segnata la presenza di eventuali effetti avversi osservati come eccitazione, scialorrea o vocalizzazioni e l'ora in cui è stata persa la stazione quadrupedale.

Durante l'infusione di propofol sono stati monitorati gli stessi parametri cardiovascolari e respiratori rilevati in fase di premedicazione. Inoltre è stata valutata la profondità di sedazione tramite manualità fisiche che andavano a rilevare la presenza o meno del tono mandibolare, del riflesso palpebrale, della masticazione, della deglutizione, della scialorrea e della posizione dell'occhio. Ad ognuna di queste rilevazioni è stato assegnato un punteggio come mostrato in tabella 5.3 Le valutazioni fisiche sono state fatte sempre dallo stesso operatore. Tutti questi dati, rilevati ogni cinque minuti, sono stati trascritti in scheda II (figura 5.3).

Tabella 5.2 punteggio utilizzato per valutare la profondità di sedazione.

Riflesso palpebrale	
0 =	Ammicciamento spontaneo
1 =	Forte
2 =	Debole
3 =	Assente
Posizione dell'occhio	
0 =	Centrale
1 =	Parzialmente ventro-mediale
2 =	Completamente ventro-mediale
Tono mandibolare	
0 =	Mantenuto
1 =	Diminuito
2 =	Assente
Masticazione	
0 =	Presente e spontanea
1 =	Presente se stimolata
2 =	Assente
Deglutizione	
0 =	Presente e spontanea
1 =	Presente se stimolata
2 =	Assente

Allo scopo di valutare successivamente, in maniera oggettiva, la profondità della sedazione, le medie dei punteggi ottenuti durante l'infusione da ogni rilevazione fisica sono state sommate al fine di ottenere un punteggio (*score*) finale.

La profondità di sedazione è stata divisa in 4 livelli, secondo le linee guida dell'ASA, (*l'American Society of Anesthesiologists*). Ad ogni livello è stato attribuito un range di punteggio in modo che il punteggio finale minimo corrispondeva a un livello di sedazione leggero e il punteggio massimo ad un piano di anestesia generale.

Tabella 5.3 Sistema di valutazione della sedazione: ad ogni rilevazione fisica effettuata è stato attribuito un punteggio. La somma di tutti i punteggi medi delle rilevazioni di scheda 5.2 eseguite durante l'infusione ha determinato, per ogni sedazione, un punteggio (*score*) finale; a seconda dello *score* finale si è classificato il livello di sedazione (leggera, moderata, profonda o anestesia generale) come mostrato in tabella.

livello di sedazione	score
leggera	0 - 6
moderata	6,1 - 9
profonda	9,1 - 11
anestesia generale	11,1 - 12

L'inadeguatezza della sedazione, inoltre, è stata valutata dalla presenza di movimenti spontanei degli arti. Questi movimenti venivano cronometrati da un operatore e, se si ripetevano consecutivamente almeno tre volte in un minuto, si procedeva con un boli aggiuntivi di propofol che venivano segnati in scheda II.

Nello stesso foglio è stata segnata anche la presenza di scialorrea o di eventi avversi comparsi durante l'infusione.

Dal momento in cui è stata interrotta l'infusione di propofol è stato registrato il tempo impiegato dall'animale per effettuare il primo movimento spontaneo, per tenere la testa alzata da terra e per riacquistare la stazione quadrupedale e questi dati sono stati riportati in scheda III (figura 5.4). Alla fine della procedura l'operatore (che è a conoscenza del protocollo a cui è stato sottoposto l'animale) e l'anestesista (che invece ne è all'oscuro) hanno valutato la qualità della sedazione tramite il metodo VAS (*visual analogue scale*).

La VAS è un metodo soggettivo che permette di misurare una varietà di fenomeni clinici e consiste nel segnare su una linea retta orizzontale di 100mm di lunghezza un trattino verticale rappresentante la qualità del parametro osservato (Wewers and Lowe, 1990). In questa linea le due estremità corrispondono ai limiti massimi del parametro valutato e, in particolare, l'estremità a sinistra rappresenta la peggior qualità e la destra la migliore (Paul-Dolphin et al., 1999). Questo metodo è molto diffuso in medicina umana per valutare l'intensità o la frequenza di vari sintomi come il dolore (Paul-Dolphin et al., 1999). In questo caso viene chiesto al paziente o all'anestesista di tracciare un trattino verticale sulla linea orizzontale per indicare l'intensità del dolore provato durante una procedura (DeLoach et al., 1998). È stato usato, inoltre, nell'immediato post operatorio per comparare differenti protocolli analgesici (DeLoach et al., 1998).

Rispetto ad altri sistemi di misurazione dolore, come ad esempio le scale numeriche, che prevedono pochi livelli di valutazione (leggero, moderato, severo, paziente agonizzante), la VAS è un sistema più sensibile alle piccole variazioni (Paul-Dolphin et al., 1999).

Oltre al dolore può essere utilizzato anche per valutare la qualità o la profondità della sedazione (Hall et al., 2000; Judith et al., 2000;), facendo corrispondere all'estremità sinistra la condizione per cui il paziente è sveglio e vigile e all'estremo destro quella per la quale il paziente non risponde alle stimolazioni (Malviya et al., 2002). A questo scopo oltre che in medicina umana è stata usata anche in veterinaria (Slingsby et al., 2009).

Nello studio in oggetto, la VAS “premedicazione” valuta il grado di tranquillizzazione dell'animale in fase di premedicazione prendendo in considerazione parametri come la presenza di eccitazione o di scialorrea, la perdita o meno di stazione e la risposta dell'animale agli stimoli circostanti.

Con la VAS “sedazione globale” nel nostro caso si intende la valutazione della qualità della sedazione nel suo insieme e prende in considerazione la presenza di effetti collaterali, la risposta dell'animale agli stimoli associati alla procedura (posizionamento, cambio di decubito), la profondità della sedazione, la quantità di boli di propofol aggiuntivi e i tempi e la qualità del risveglio.

La qualità di sedazione è stata considerata sufficiente per valori di VAS maggiori di 5.

5.5. PARAMETRI ECOCARDIOGRAFICI

Tra i parametri ecocardiografici valutati, sono stati presi in considerazione, come indicatori della funzionalità sistolica, la gittata cardiaca (stroke volume, sv), la gittata cardiaca misurata con metodo Teicholz (sv_t), la frazione di accorciamento (fs) e si è calcolata la portata cardiaca (co).

Tra queste misurazioni, sono state indicizzate al BSA (superficie corporea degli animali) le misurazioni relative ai volumi cardiaci (EDV, ESV, SV) ma non quelle derivanti da rapporti (fs).

Lo stroke volume è stato calcolato tramite la formula:

$$SV = EDV - ESV$$

EDV= volume telediastolico.

ESV= volume telesistolico.

I volumi telediastolico e telesistolico sono stati calcolati tramite la formula di Teicholz:

$$EDV = 7 * LVEDD^3 / (2,4 + LVEDD)$$

$$ESV = 7 * LVESD^3 / (2,4 + LVESD)$$

LVEDD= dimensioni del ventricolo sinistro a fine diastole.

LVESD= dimensioni del ventricolo sinistro a fine sistole.

E' stato riportato anche il valore di stroke volume calcolato con la formula:

$$SV = \emptyset A_o * TVI \quad \emptyset A_o = A_{os} / 2 * 3,14$$

TVI= integrale velocità-tempo.

$\emptyset A_o$ = area della radice aortica.

Aos= diametro dell'aorta.

La portata cardiaca è calcolata tramite la formula:

$$CO = FC * SV$$

FC= frequenza cardiaca.

La frazione di accorciamento (percentuale di riduzione del diametro interno del ventricolo tra fine diastole e fine sistole) è stata calcolata tramite la formula:

$$FS (\%) = EDD - ESD / EDD * 100$$

EDD= dimensioni del ventricolo a fine diastole

ESD= dimensioni del ventricolo a fine sistole

5.6. ANALISI STATISTICA

Le variabili riportate in tabella 5.4, essendo misurazioni ripetute nel tempo, sono stati sottoposti ad analisi statistica tramite l'analisi della varianza (ANOVA) utilizzando il modello lineare:

$y = \text{gruppo (group)} + \text{pecora (sheep)} + \text{tempo (t)} + \text{tempo per gruppo (group*t)} + \text{errore.}$

L'analisi statistica ha, quindi, incluso come fattori sperimentali, per queste variabili, il gruppo, la pecora, il tempo ed il tempo per il gruppo (che indica se le differenze tra i gruppi rimangono costanti nel tempo). Dall'analisi sono stati ricavati i valori di F (F di Fischer) e le medie dei minimi quadrati (LSMEANS).

$F = \text{media quadratica dell'effetto} / \text{media quadratica dell'errore}$

La differenza tra le medie è stata considerata statisticamente significativa per valori di $p < 0,05$ (differenze statisticamente significative); $p < 0,01$ (differenze altamente significative).

Tabella 5.4 Variabili per le quali è stata condotta l'analisi della varianza utilizzando il modello lineare: $y = \text{gruppo (group)} + \text{pecora (sheep)} + \text{tempo (t)} + \text{tempo per gruppo (group*t)} + \text{errore.}$

frequenza cardiaca	hr
frequenza respiratoria	rr
pressione diretta sistolica, diastolica, media	sibp, dibp, mibp
movimenti spontanei	spmov
boli di propofol	pbol
Ammicciamento (blinking)	blink
posizione dell'occhio	eyepos
tono mandibolare	jawtone
scialorrea	scial
Masticazione (chewing)	chew
Deglutizione (swallowing)	swal
Apertura o chiusura dell'occhio	eye

Per le variabili riportate in tabella 5.5, che non sono misurazioni ripetute nel tempo, è stata condotta l'analisi della varianza (ANOVA) utilizzando il modello lineare:

$$y = \text{gruppo (group)} + \text{pecora (sheep)} + \text{errore.}$$

Non sono stati inclusi, tra i fattori sperimentali considerati, il tempo ed il tempo per gruppo.

Tabella 5.5 Variabili per le quali è stata condotta l'analisi della varianza utilizzando il modello lineare: $y = \text{gruppo (group)} + \text{pecora (sheep)} + \text{errore.}$

tspmov	Tempo da stop propofol a primo movimento
thead	Tempo da stop propofol a movimento testa
tstat	Tempo da stop propofol a ripresa stazione
trials	Tentativi di rialzarsi
excit	Eccitazione in premedicazione
lstat	Perdita della stazione in premedicazione
tlstat	Tempo dalla somministrazione della premedicazione alla perdita di stazione
vocal	Vocalizzi
scial	Scialorrea
weight	Massa corporea degli animali
sv	Stroke volume
sv_t	Stroke volume ricavato con la formula di Teicholz
fs	Frazione di accorciamento
co	Portata cardiaca

Per le variabili mostrate in tabella 5.6, che sono misurazioni ripetute nel tempo, è stata condotta l'analisi della varianza (ANOVA) utilizzando il modello lineare:

$$y = \text{gruppo (group)} + \text{pecora (sheep)} + \text{tempo (t)} + \text{metodo (met)} + \text{errore.}$$

Tabella 5.6 Variabili per le quali è stata condotta l'analisi della varianza utilizzando il modello lineare:
 $y = \text{gruppo (group)} + \text{pecora (sheep)} + \text{tempo (t)} + \text{metodo (met)} + \text{errore}$.

sis, dia, med	Pressione sistolica, diastolica, media
dire	Pressione diretta
inda	Pressione indiretta rilevata sull'arto anteriore
indp	Pressione indiretta rilevata sull'arto posteriore

Per i valori di VAS non è stato possibile eseguire l'analisi statistica a causa dello scarso numero di rilevazioni, i dati sono stati, quindi, espressi come media aritmetica \pm deviazione standard.

6. RISULTATI

La sperimentazione è stata condotta secondo le modalità proprie di uno studio controllato randomizzato in cieco (tabella 6.1).

Negli studi controllati randomizzati (*Randomised controlled Trials*, RCT) i soggetti partecipanti sono assegnati in modo casuale a uno dei gruppi di cui è composto lo studio in modo da aumentare la probabilità che i vari gruppi siano omogenei. All'interno degli RCT, uno studio *cross-over* (*cross-over design*), è caratterizzato dal fatto che ogni soggetto sarà sottoposto a ciascuno dei trattamenti in studio in ordine casuale, quindi, ad esempio, il soggetto 1 riceverà prima il trattamento A, poi il B e, successivamente, il C. Il soggetto 2, invece, potrebbe ricevere prima il trattamento B, poi il C infine quello A. Il vantaggio principale del *cross-over design* è quello di eliminare le differenze individuali soggettive dall'effetto complessivo che il trattamento in studio ha sul soggetto. I limiti più importanti sono che le condizioni di partenza dello studio non cambino nel tempo e che l'effetto di un trattamento scompaia prima che il successivo sia applicato.

Tabella 6.1 Modello di studio eseguito secondo i principi di un RCT a *cross over design*. Le sei pecore che sono rientrate nella sperimentazione sono nominate con numeri progressivi da 1 a 6. I tre protocolli presi in esame sono midazolam e butorfanolo (MB, n=8), midazolam e pentazocina (MP, n=7) e midazolam (M, n=6). Le sette giornate in cui sono state programmate le sedazioni sono state nominate giorno 1-7.

giorno 1		giorno 2		giorno 3		giorno 4	
pecora	protocollo	pecora	protocollo	pecora	protocollo	pecora	protocollo
1	MB	1	MP	–	–	–	–
2	MP	2	M	2	MB	–	–
3	MB	3	MP	3	M	–	–
4	M	4	MB	4	MP	–	–
–	–	–	–	–	–	5	MB
–	–	–	–	–	–	–	–
giorno 5		giorno 6		giorno 7			
pecora	protocollo	pecora	protocollo	pecora	protocollo		
–	–	–	–	–	–		
2	MP	–	–	2	M		
3	MB	–	–	3	MP		
4	M	–	–	4	MB		
5	MP	5	M	–	–		
–	–	6	MB	–	–		

I dati mostrati in questo capitolo sono espressi come media dei minimi quadrati (LSMEAN) \pm deviazione standard (ds) o media aritmetica \pm deviazione standard (ds).

I tre gruppi sono identificati con: M (midazolam, n=6), MB (midazolam e butorfanolo, n=7) e MP (midazolam e pentazocina, n=7).

Le tre diverse premedicazioni, quindi, sono state somministrate ai sei soggetti in studio in modo alternato piuttosto che in ordine casuale così da formare tre gruppi il più possibile bilanciati in peso ed età e da ridurre al minimo le influenze soggettive (Upton et al, 2009) (vedi tabella 6.2). A tutti i soggetti, ad eccezione di due, sono stati sottoposti tutti e tre i protocolli almeno una volta. Le due eccezioni riguardano la pecora 1, il cui sacrificio è incorso a metà dello studio e la pecora 6 che è stata introdotta nelle fasi terminali della raccolta dati. I tre gruppi sono risultati essere omogenei per massa corporea ed età (Tabella 6.2). La durata media della procedura è stata molto variabile all'interno dei gruppi. Per

l'analisi statistica si è deciso di prendere in considerazione solo le rilevazioni fino a 80 minuti dopo la somministrazione della premedicazione.

Tabella 6.2 Dati medi relativi alla massa corporea media (LSMEANS±ds) e all'età (media aritmetica±ds) ed alla durata media della procedura (media aritmetica±ds) nei tre gruppi.

	Massa corporea (kg)	Età (mesi)	Durata della procedura (minuti)
Gruppo MB (n=8)	40,4 ± 7,7	3,6 ± 0,7	71,50 ± 25,65
Gruppo MP (n=7)	42,3 ± 9,6	3,9 ± 0,4	77,57 ± 10,44
Gruppo M (n=6)	43 ± 6,9	4 ± 0	73,50 ± 11,11

6.1. COMPARAZIONE DEI TRE PROTOCOLLI

Tutte le sedazioni hanno permesso all'ecocardiografista di portare a termine la procedura agevolmente, non ci sono state complicazioni rilevanti in alcuno dei tre gruppi e tutti i soggetti sono stati riportati poco dopo il risveglio nei box di stabulazione senza particolari conseguenze. In un soggetto appartenente al gruppo MB sono state osservate sporadiche extrasistoli ventricolari circa 55 minuti dopo l'inizio dell'infusione di propofol; non è stato necessario intervenire poiché l'aritmia si è risolta spontaneamente entro 30 minuti. In un caso, appartenente al gruppo MP è stata riscontrata la presenza di fascicolazioni dopo 40 minuti dall'inizio dell'infusione, anche queste si sono risolte spontaneamente. Durante la procedura non si sono riscontrate le complicazioni maggiormente descritte in letteratura per la pecora, come rigurgito o timpanismo, e non è stato necessario assistere la ventilazione. In nessun caso, infatti, sono state riscontrate apnea, intesa come mancanza di atti respiratori spontanei per più di 60 secondi (Carrol et al., 1998), cianosi o desaturazione dell'emoglobina.

Dopo la somministrazione della premedicazione, tra i tre gruppi non ci sono state differenze statisticamente rilevanti riguardo al numero di soggetti che hanno perso la stazione quadrupedale (tabella 6.3). Solo un soggetto appartenente al gruppo MB, dopo aver perso la stazione dopo circa un minuto dalla premedicazione, si è rialzato dopo 4 minuti per poi ritornare in decubito sternale nell'arco di altri 5 minuti. Durante questa fase alcuni soggetti hanno mostrato le

complicazioni più comuni descritte in letteratura proprie dei piccoli ruminanti, quali eccitazione, vocalizzazioni e scialorrea. L'eccitazione post-somministrazione è stata osservata in 3 casi su 8 nel gruppo MB, in 2 casi su 7 nel gruppo MP e in 3 casi su 6 nel gruppo M, mentre l'aumento della vocalizzazione è stato osservato solo nel gruppo MB. Dopo la somministrazione della premedicazione solo 4 soggetti su 8 hanno perso la stazione in un tempo medio di $1,75 \pm 1,5$ min (media \pm dev.standard) nel gruppo MB, 5 pecore su 7 in un tempo medio di $2 \pm 1,4$ minuti nel gruppo MP, 2 soggetti su 6 in un tempo medio di $2,5 \pm 0,70$ minuti nel gruppo M. La scialorrea è stata osservata solo nel gruppo MB (2 soggetti su 8) e nel gruppo M (2 su 6). Non c'è stata, tuttavia, significatività statistica nella comparazione di queste variabili nei i tre gruppi.

Tabella 6.3 Risultati dell'analisi della varianza con test di Fisher per le variabili perdita di stazione (lstat), tempo che ha impiegato per perdere la stazione (tlstat), vocalizzazioni (vocal), eccitazione (excit) e scialorrea (scial).

	group	sheep
lstat	0,25	3,31
tlstat	0,26	1,87
vocal	2,79	1,93
excit	0,24	0,23
scial	2,67	0,57

*Differenze statisticamente significative ($p < 0,05$)

**Differenze altamente significative ($p < 0,01$)

***Differenze altissimamente significative ($p < 0,001$)

I parametri cardiovascolari e respiratori, per la maggior parte della durata della procedura, si sono mantenuti entro i limiti di normalità descritti per la pecora (Tabella 3.1).

I risultati dell'analisi statistica per le variabili frequenza cardiaca (fc), frequenza respiratoria (fr) e pressione arteriosa sistolica, diastolica e media (sibp, dibp, mibp) sono mostrati in tabella 6.4. La tabella mostra i valori di F (F di Fischer) e, questi valori, se sono stati statisticamente significativi (per $P < 0,05$; $P < 0,01$; $P < 0,001$), sono stati contrassegnati con degli asterischi come mostrato nella nota a piè della tabella. La significatività statistica è stata rilevata tramite analisi della varianza per misurazioni ripetute (ANOVA) che ha incluso come fattori sperimentali, per queste variabili, il gruppo, la pecora, il tempo ed il tempo per il

gruppo (rispettivamente in colonna due, tre, quattro e cinque). Nella prima colonna, invece, sono riportate le variabili misurate.

Tabella 6.4 Risultati dell'analisi della varianza con test di Fisher per le variabili frequenza cardiaca (hr), frequenza respiratoria (rr), pressione arteriosa sistolica, diastolica e media (sibp, dipb, mibp).

	group	sheep	t	group*t
Hr	0,17*	13,44***	0,79	0,65
Rr	0,044	7,35***	0,66	0,4
Dipb	0,15*	26,24***	1,95*	0,78
Sibp	0,08	23,75***	0,69	0,55
Mibp	0,03	35,60***	1,12	0,68

*Differenze statisticamente significative (p<0,05)

**Differenze altamente significative (p<0,01)

***Differenze altissimamente significative (p<0,001)

In tabella 6.5 sono riportate le medie dei minimi quadrati (LSMEANS) e le deviazioni standard (ds) per le variabili in studio (fc, rr, dipb, sibp, mibp) e la loro significatività statistica in base al fattore gruppo. Quando ci sono state differenze significative tra i tre gruppi, queste sono state indicate con delle lettere in apice (come mostrato nella nota a piè di tabella); se, invece, non ci sono state differenze significative, questo è stato indicato tramite la sigla “n.s.” riportata in didascalia.

Tabella 6.5 Valori medi (LSMEANS±ds) ed effetto del fattore sperimentale “gruppo” sulle variabili frequenza cardiaca (hr) ($p<0,05$), frequenza respiratoria (rr) (n.s.), pressione arteriosa sistolica (n.s.), diastolica ($p<0,05$) e media (n.s.) (sibp, dipb, mibp).

	M	MB	MP
Hr	106,187472 ^a	109,33	112,823752 ^b
Rr	40,72	43,98	46,33
Sibp	109,96	106,46	109,51
Dibp	82,7914876 ^a	79,3242744 ^b	82,9369637 ^a
Mibp	93,43	92,03	94,15

^{a,b}Differenze statisticamente significative ($p<0,05$)

^{A,B}Differenze altamente significative ($p<0,01$)

n.s. non statisticamente significativo.

Nei tre gruppi la frequenza cardiaca media si è mantenuta costante senza differenze rilevanti. Solo nel gruppo MP si è registrata una frequenza significativamente più alta, seppure di poco, rispetto al gruppo M (grafico 6.1, tabella 6.4). La frequenza cardiaca media, nei tre gruppi, ha avuto un andamento oscillante per tutta la durata della procedura, con valori compresi tra 97 ± 18 e 120 ± 10 battiti minuto^{-1} nel gruppo MB, tra 94 ± 10 e 125 ± 24 battiti minuto^{-1} nel gruppo MP e tra 94 ± 8 e 119 ± 23 battiti minuto^{-1} nel gruppo M (tabella 6.6 e 6.7).

I valori di pressione diretta sono stati sovrapponibili nei tre gruppi sia nella fase della premedicazione che durante il mantenimento della sedazione con infusione di propofol; la sola pressione diastolica del gruppo MB è risultata statisticamente inferiore rispetto agli altri due gruppi, anche se questa differenza è clinicamente poco rilevante (tabella 6.5). La pressione arteriosa media è rimasta compresa tra 88 ± 7 e 95 ± 12 mmHg nel gruppo MB, 83 ± 23 e 100 ± 10 mmHg nel gruppo MP e 87 ± 10 e 99 ± 12 mmHg nel gruppo M (tabella 6.6 e 6.8).

Tabella 1.46.6 Valori medi (LSMEANS±ds) ed effetto del tempo sulle variabili frequenza cardiaca (hr) (n.s), frequenza respiratoria (rr) (n.s), pressione arteriosa sistolica (n.s), diastolica (p<0,05), media (n.s) (sibp,dibp,mibp) in premedicazione.

	tempo dopo la premedicazione (minuti)			
	0	5	10	15
HR (battiti minuto ⁻¹)				
Gruppo MB ^(a)	101 ± 23	116 ± 25	107 ± 21	109 ± 30
Gruppo MP	94 ± 10	110 ± 35	119 ± 29	119 ± 25
Gruppo M	109 ± 25	94 ± 17	94 ± 8	98 ± 27
RR (atti minuto ⁻¹)				
Gruppo MB	42 ± 10,3	42 ± 16,4	48 ± 16,1	49 ± 23,5
Gruppo MP	45 ± 15	47 ± 22	49 ± 14	59 ± 22
Gruppo M	39 ± 11	44 ± 13	48 ± 9	45 ± 12
SIBP (mmHg)				
Gruppo MB	116 ± 15	110 ± 14	103 ± 17,7	109 ± 11
Gruppo MP	107 ± 13	110 ± 10	118 ± 12	115 ± 12
Gruppo M	113 ± 12	111 ± 11	114 ± 13	109 ± 14
DIBP (mmHg)				
Gruppo MB ^(b)	78 ± 10	73 ± 13	75 ± 11	76 ± 8
Gruppo MP ^(a)	78 ± 9	82 ± 9	85 ± 9	83 ± 19
Gruppo M ^(a)	79 ± 15	74 ± 6	73 ± 11	79 ± 18
MIBP (mmHg)				
Gruppo MB	98 ± 10	90 ± 10	88 ± 13	91 ± 9
Gruppo MP	92 ± 13	93 ± 8	99 ± 9	94 ± 6
Gruppo M	93 ± 12	89 ± 8	92 ± 10	87 ± 17

^{a,b}Differenze statisticamente significative (p<0,05)

^{A,B}Differenze altamente significative (p<0,01)

n.s. non statisticamente significativo.

Tabella 6.7 Effetto del tempo sulle variabili frequenza cardiaca (hr) (n.s), frequenza respiratoria (rr) (n.s) durante l'infusione di propofol.

	tempo dopo l'inizio dell'infusione continua di propofol (minuti)												
	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80
HR													
(battiti minuto ⁻¹)													
Gruppo MB ^(a)	107 ± 20	115 ± 16	111 ± 23	97 ± 18	111 ± 22	104 ± 12	111 ± 15	102 ± 14	111 ± 15	119 ± 22	116 ± 19	120 ± 10	103 ± 17
Gruppo MP ^(b)	120 ± 28	125 ± 24	118 ± 27	103 ± 24	117 ± 23	114 ± 20	120 ± 22	113 ± 22	116 ± 12	111 ± 2	110 ± 28	106 ± 22	104 ± 19
Gruppo M	118 ± 49	109 ± 21	107 ± 28	110 ± 24	104 ± 23	103 ± 16	105 ± 18	106 ± 17	105 ± 20	111 ± 31	108 ± 34	119 ± 33	104 ± 21
RR													
(atti minuto ⁻¹)													
Gruppo MB	54 ± 49	38 ± 24	41 ± 15	46 ± 40	49 ± 35	37 ± 22	44 ± 30	36 ± 17	48 ± 34	48 ± 39	44 ± 28	41 ± 15	40 ± 33
Gruppo MP	42 ± 10	56 ± 35	58 ± 30	46 ± 20	36 ± 9	40 ± 9	39 ± 12	43 ± 19	41 ± 18	56 ± 15	46 ± 23	45 ± 21	40 ± 22
Gruppo M	56 ± 3	42 ± 14	36 ± 12	36 ± 15	36 ± 19	33 ± 10	37 ± 15	40 ± 13	39 ± 22	39 ± 11	37 ± 14	44 ± 16	43 ± 17

^{a,b}Differenze statisticamente significative (p<0,05)

^{A,B}Differenze altamente significative (p<0,01)

n.s. non statisticamente significativo.

Tabella 6.8 Effetto del tempo sulle variabili pressione arteriosa sistolica (n.s), diastolica (p<0,05), media (n.s) (sibp,dibp,mibp) durante l'infusione di propofol.

	tempo dopo l'inizio dell'infusione continua di propofol (minuti)												
	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80
SIBP (mmHg)													
Gruppo MB	107 ± 16	105 ± 8	106 ± 6	106 ± 7	110 ± 13	98 ± 5	109 ± 17	108 ± 12	96 ± 42	110 ± 13	108 ± 9	102 ± 8	106 ± 13
Gruppo MP	108 ± 15	102 ± 24	111 ± 18	110 ± 19	104 ± 20	106 ± 21	112 ± 20	110 ± 20	107 ± 11	108 ± 13	111 ± 20	115 ± 13	108 ± 2
Gruppo M	105 ± 14	107 ± 13	114 ± 15	110 ± 11	110 ± 12	107 ± 9	112 ± 14	110 ± 15	113 ± 13	107 ± 13	110 ± 17	108 ± 12	109 ± 6
DIBP (mmHg)													
Gruppo MB ^(b)	79 ± 10	81 ± 10	79 ± 6	81 ± 8	83 ± 7	80 ± 10 ^(c)	83 ± 11	82 ± 7	75 ± 15	82 ± 10	83 ± 4	77 ± 8	81 ± 7
Gruppo MP ^(a)	79 ± 18	71 ± 21	87 ± 15	86 ± 21	80 ± 15	82 ± 14	87 ± 11	86 ± 17	84 ± 10	82 ± 8	86 ± 11	88 ± 7	82 ± 16
Gruppo M ^(a)	74 ± 3	78 ± 18	88 ± 13	87 ± 11	87 ± 12	83 ± 10	84 ± 13	84 ± 13	90 ± 12	82 ± 12	87 ± 11	87 ± 12	91 ± 12
MIBP (mmHg)													
Gruppo MB	91 ± 14	91 ± 9	90 ± 5	92 ± 7	95 ± 11	88 ± 7	94 ± 13	94 ± 10	93 ± 9	95 ± 12	94 ± 6	89 ± 6	93 ± 10
Gruppo MP	91 ± 18	83 ± 23	99 ± 16	92 ± 10	90 ± 17	93 ± 18	97 ± 16	96 ± 19	95 ± 10	95 ± 10	97 ± 14	100 ± 10	94 ± 19
Gruppo M	88 ± 6	88 ± 14	97 ± 13	96 ± 11	96 ± 12	93 ± 10	95 ± 14	95 ± 14	99 ± 12	95 ± 10	95 ± 11	95 ± 11	98 ± 9

^{a,b}Differenze statisticamente significative (p<0,05)

^{A,B}Differenze altamente significative (p<0,01)

n.s. non statisticamente significativo.

È stato inoltre considerato l'effetto sulla frequenza cardiaca dei boli di propofol somministrati in caso di 3 o più movimenti degli arti in un minuto, considerati segni di alleggerimento della sedazione.

L'andamento della frequenza respiratoria media nel tempo non ha mostrato differenze statisticamente significative nei tre gruppi; è possibile, tuttavia, notare una tendenza all'aumento in corrispondenza di un maggior numero di movimenti spontanei e di somministrazioni aggiuntive di propofol (grafico 6.2).

I valori minimi e massimi nei tre gruppi sono stati, rispettivamente, 38 ± 24 e 49 ± 35 atti respiratori minuto^{-1} per il gruppo MB, 36 ± 9 e 59 ± 22 atti respiratori minuto^{-1} nel gruppo MP e 39 ± 11 e 56 ± 3 atti respiratori minuto^{-1} nel gruppo M (tabella 6.6 e 6.7).

Grafico 6.1 Effetto del tempo sulla variabile frequenza cardiaca (hr) (n.s.) durante l'infusione di propofol e correlazione con la somministrazione di boli di propofol (pbol) in asse verticale secondaria nel gruppo MB (primo grafico), MP (secondo grafico) e M (terzo grafico).

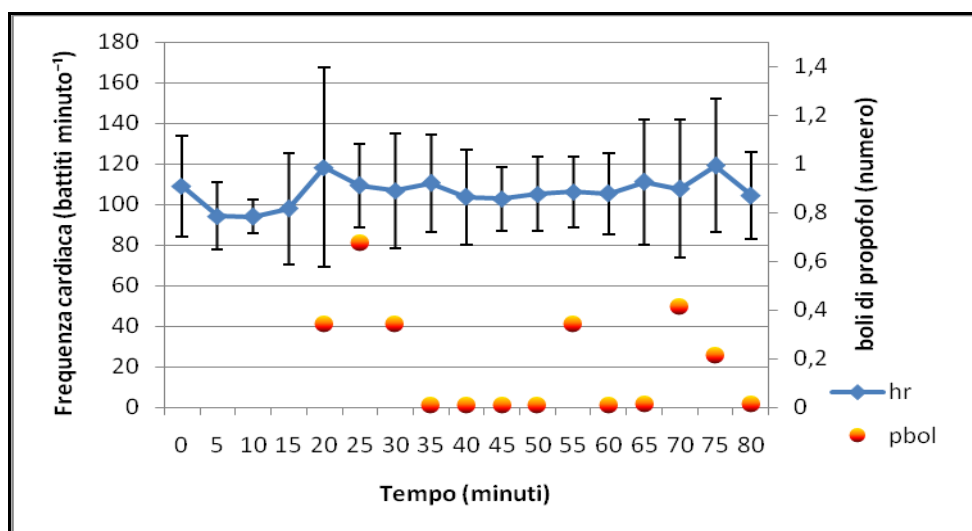
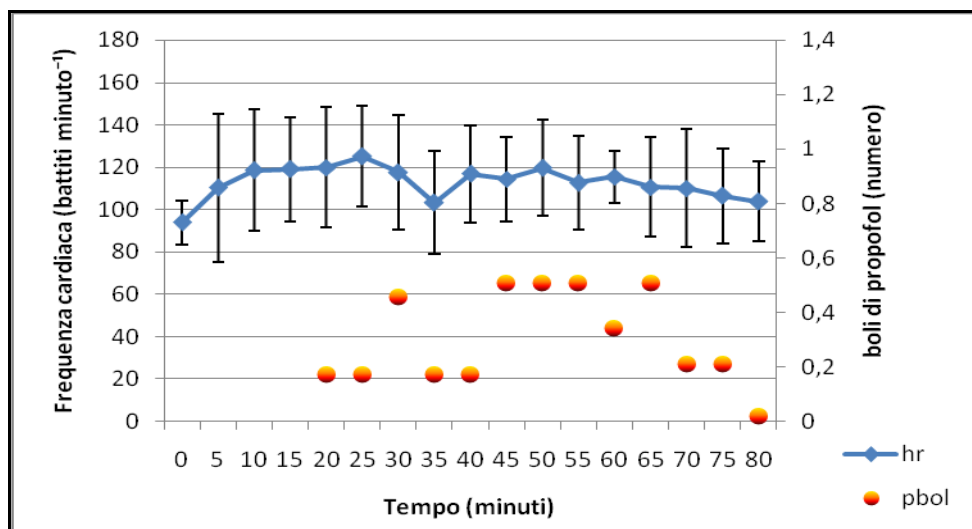
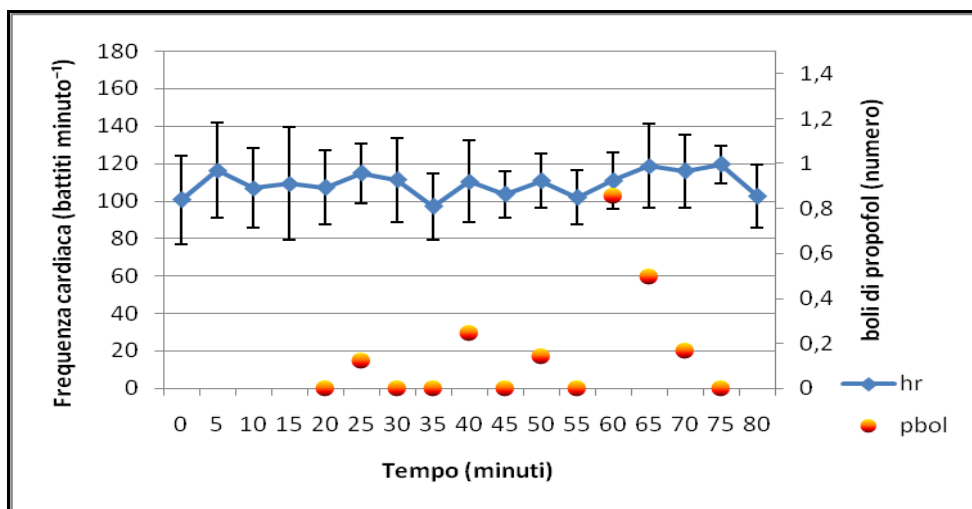
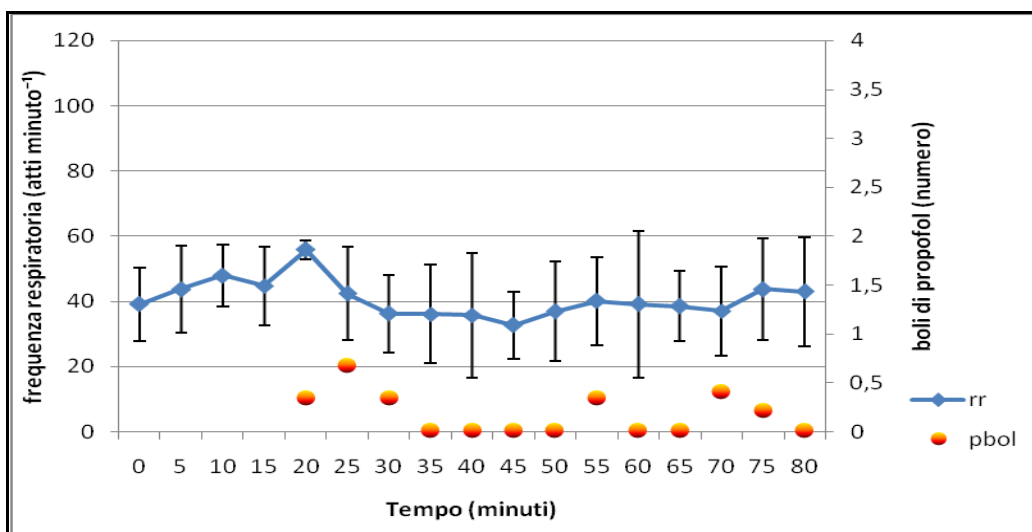
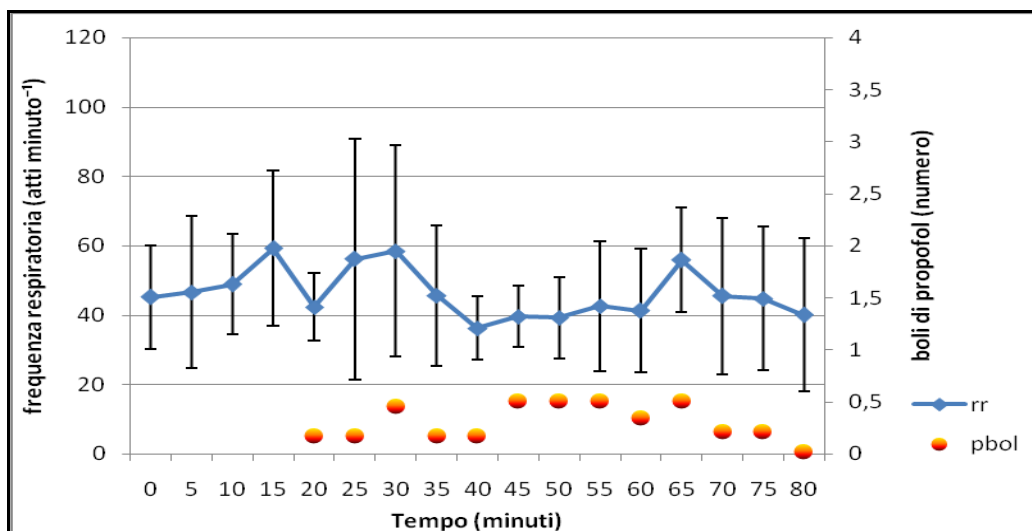
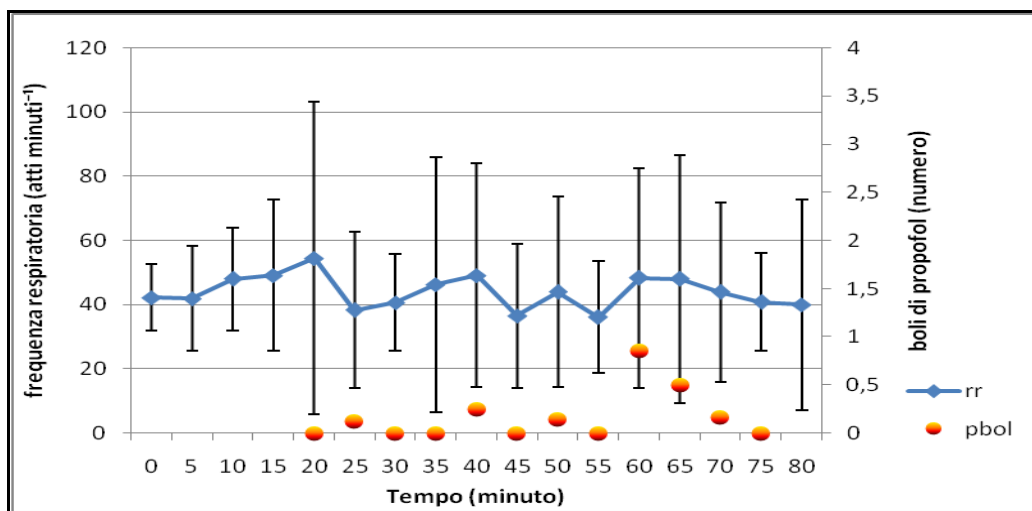


Grafico 6.2 Effetto del tempo sulla variabile frequenza respiratoria (rr) (n.s.) durante l'infusione di propofol e correlazione con la somministrazione di boli di propofol (pbol) in asse verticale secondaria nel gruppo MB (primo grafico), MP (secondo grafico) e M (terzo grafico).



Durante l'infusione di propofol la profondità di sedazione è stata valutata mediante rilevazioni fisiche registrate ogni 5 minuti (Tabella 5.2) e, a queste, è stato attribuito un punteggio. Nei tre gruppi l'andamento di questi parametri è stato sovrapponibile (tabella 6.9). Solo il riflesso palpebrale ha ottenuto un punteggio mediamente maggiore (che corrisponde ad un livello di sedazione più profondo), durante il periodo di infusione, nel gruppo M rispetto al gruppo MP e questa differenza è stata statisticamente rilevante (tabella 6.10). Come descritto in letteratura, durante l'infusione, in alcuni soggetti, si è osservata la presenza di scialorrea. Per il gruppo M questa complicazione si è osservata in misura maggiore rispetto ai gruppi MB e MP e questa differenza è stata altamente significativa (tabella 6.10).

Tabella 6.9 Risultati dell'analisi della varianza con test di Fisher per le variabili ammiccamento (blink), posizione dell'occhio (eyepos), tono mandibolare (jawtone), scialorrea (scial), masticazione (chew), deglutizione (swal), apertura dell'occhio (eye).

	group	sheep	t	group*t
blink	0,26*	9,30***	1,57	0,57
eyepos	0,43	2,66*	1,43	0,67
jawtone	0,01	25,22***	0,68	1,07
scial	0,62***	28,04***	0,87	1,03
chew	0,09	16,29***	1,68	1,3
swal	0,07	10,43***	1,01	0,65
eye	0,03	3,34**	1,23	1,29

*Differenze statisticamente significative (p<0,05)

**Differenze altamente significative (p<0,01)

***Differenze altissimamente significative (p<0,001)

Tabella 6.10 Effetto del gruppo sulle variabili ammiccamento (blink) ($p < 0,05$), posizione dell'occhio (eyepos) (n.s.), tono mandibolare (jawtone) (n.s.), scialorrea (scial) ($p < 0,01$), masticazione (chew) (n.s.), deglutizione (swal) (n.s.), apertura dell'occhio (eye) (n.s.).

	gruppo M	gruppo MB	gruppo MP
blink	1,28578541 ^a	1,17589125	1,02503198 ^b
eyepos	0,26435606	0,38312317	0,4171425
jawtone	0,18982867	0,21919577	0,2492566
scial	0,53020238 ^A	0,23329118 ^B	0,21932033 ^B
chew	1,31713963	1,30286024	1,15311928
swal	1,41896408	1,37402382	1,28441866
eye	0,428731	0,45985247	0,39199881

^{a,b}Differenze statisticamente significative ($p < 0,05$)

^{A,B}Differenze altamente significative ($p < 0,01$)

n.s. non statisticamente significativo.

Durante il periodo di risveglio in nessuno dei tre gruppi si sono osservati eventi avversi e in nessun caso è stato necessario intervenire prima di riaccompagnare i soggetti nei box di stabulazione. Questa fase, che ha inizio in corrispondenza dell'interruzione dell'infusione di propofol, è stata divisa in tre intervalli di tempo: fino alla comparsa del primo movimento spontaneo (tspmov), fino a che il soggetto era in grado di mantenere la testa sollevata da terra (thead) e fino alla ripresa della stazione quadrupedale (tstat). In tutti i soggetti i tempi di risveglio sono stati brevi e non ci sono state differenze statisticamente significative nella comparazione dei quattro intervalli di tempo nei tre gruppi (tabella 6.11, grafico 6.3).

Tabella 6.11 Risultato dell'analisi della varianza con test di Fischer per le variabili primo movimento spontaneo (tspmov), testa alzata da terra (thead), recupero della stazione (tstat) dopo la fine dell'infusione di propofol e numero di tentativi fatti per il recupero della stazione (trials).

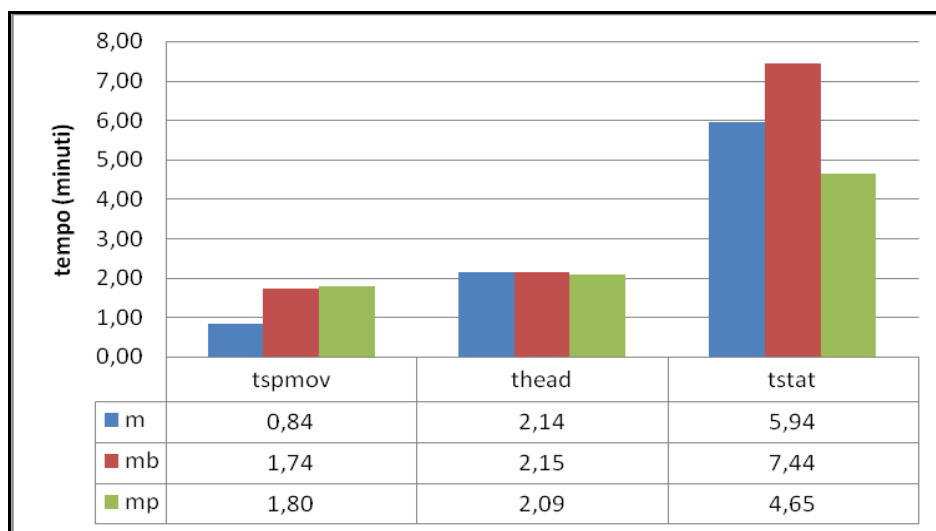
	group	sheep
tspmov	0,06	2,15
thead	0	4,2
tstat	0,13	7,31**
trials	0,09	4,46*

*Differenze statisticamente significative (p<0,05)

**Differenze altamente significative (p<0,01)

***Differenze altissimamente significative (p<0,001)

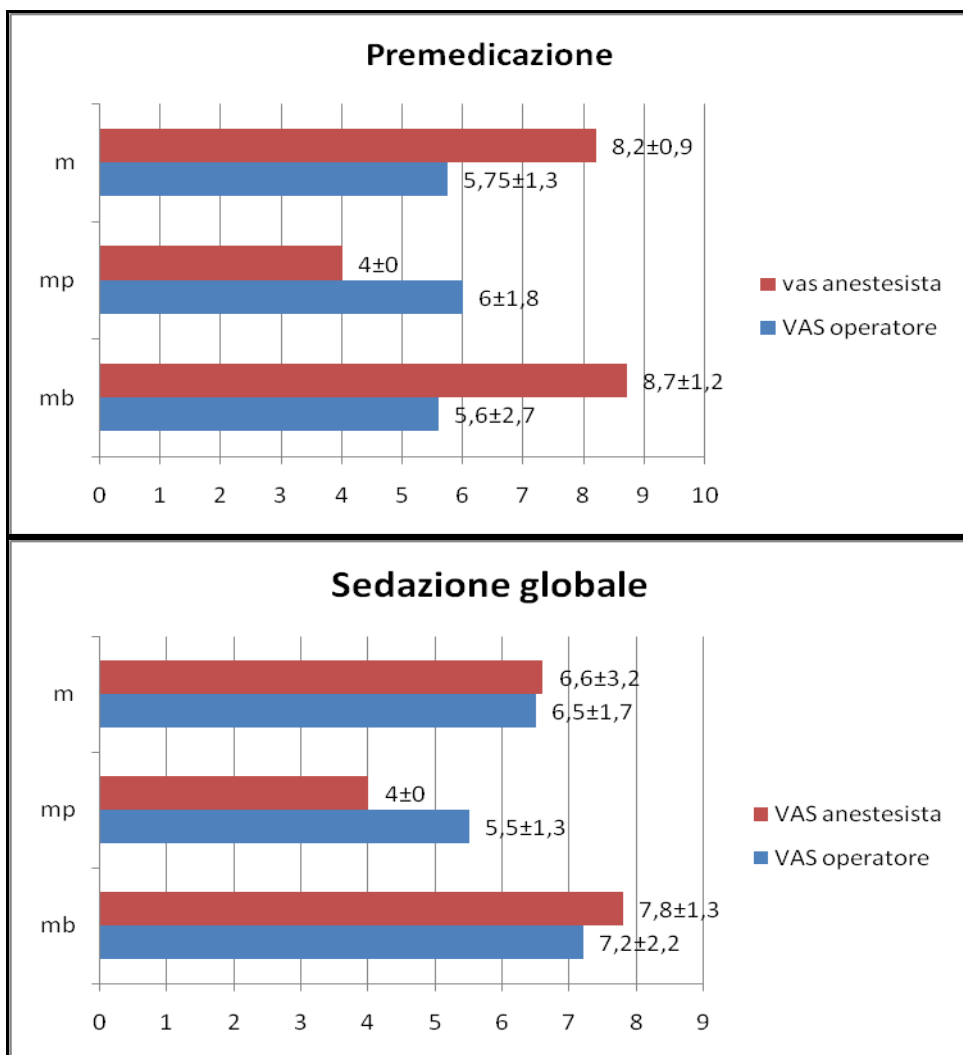
Grafico 6.3 Medie aritmetiche dei tempi di risveglio nei tre gruppi: M, MB, MP.



Non essendo stato possibile effettuare la valutazione della sedazione tramite metodo VAS in tutte le occasioni, per insufficienza di dati campionati, l'analisi statistica non è stata eseguita. Verrà, quindi, fatta un'analisi descrittiva dei dati dei singoli gruppi. I dati sono illustrati nel grafico 6.4.

Per quanto riguarda i gruppi MB e M, sia l'anestesista che l'operatore sono stati concordi nel giudicare la qualità della premedicazione e della sedazione globale più che sufficienti (valori maggiori di 5). Solo il gruppo MP è stato considerato, sia in premedicazione che in sedazione globale, poco soddisfacente dall'anestesista. Entrambi i valutatori hanno giudicato la sedazione globale indotta dal gruppo MB mediamente di qualità superiore rispetto agli altri gruppi.

Grafico 6.4 Medie (\pm ds) della vas relativa alla qualità della premedicazione (grafico 1) ed alla qualità della sedazione globale (grafico 2) nei tre gruppi (M, MP, MB rappresentati in asse verticale). In blu è riportata la VAS dell'operatore e in rosso la VAS dell'anestesista.



Tra i parametri ecocardiografici sono stati presi in considerazione la gittata cardiaca (stroke volume, sv), la gittata cardiaca misurata con metodo Teicotz (sv_t), la frazione di accorciamento (fs) e la portata cardiaca (co). Nessuno di questi parametri ha mostrato variazioni statisticamente significative tra i tre gruppi (tabella 6.12 e 6.13).

Tabella 6.12 Risultato dell'analisi della varianza con test di Fischer per le variabili stroke volume misurata con metodo Teicholz (sv_t, litri), stroke volume (sv, litri), frazione di accorciamento (fs, %) e portata cardiaca (co, litri minuto⁻¹). I due fattori sperimentali considerati sono stati il protocollo (MB, MP, M) e la pecora (sheep) rispettivamente in colonna 2 e 3.

	prot	sheep
sv_t	0,17	8,98**
fs	0,8	0,77
sv	0,27	5,82**
co	0,32	14,72**

*Differenze statisticamente significative (p<0,05)

**Differenze altamente significative (p<0,01)

***Differenze altissimamente significative (p<0,001)

Tabella 6.13 Medie (LSMEANS) ed effetto del gruppo sulle variabili stroke volume misurata con metodo Teicholz (sv_t, millilitri) (n.s.), stroke volume (sv, millilitri) (n.s.), frazione di accorciamento (fs, %) (n.s.) e portata cardiaca (co, litri minuto⁻¹) (n.s.).

	M	MB	MP
sv_t	24,71	29,89	25,12
fs	25,66	28,72	27,01
sv	54,82	64,68	62,30
co	5,67	6,57	7,44

^{a,b}Differenze statisticamente significative (p<0,05)

^{A,B}Differenze altamente significative (p<0,01)

n.s. non statisticamente significativo.

6.2. VALUTAZIONE DELLO SPARING EFFECT DELL'OPPIOIDE SUL PROPOFOL

Nel gruppo MB 3 soggetti su 8 non hanno richiesto la somministrazione aggiuntiva di propofol durante l'infusione, nel gruppo MP 1 soggetto su 7 e, nel gruppo M 1 soggetto su 6. L'andamento dell'infusione di propofol e della rilevazione della presenza di movimenti spontanei nel tempo è sovrapponibile e questo vale per tutti e tre i gruppi. La media dei boli di propofol aggiuntivi somministrati durante l'infusione non presenta differenze statisticamente significative né tra i due gruppi caratterizzati dalla presenza dell'oppioide in premedicazione (MB e MP) né tra questi e il gruppo con solo midazolam in premedicazione (M) (tabella 6.14). La frequenza della presenza di movimenti spontanei è stata mediamente maggiore nel gruppo MP rispetto al gruppo MB e questa differenza è risultata altamente significativa dall'analisi statistica (tabella 6.15).

Tabella 6.14 Risultato dell'analisi della varianza con test di Fischer per le variabili boli di propofol aggiuntive (pbol) e movimenti spontanei (spmov).

	group	sheep	t	group*t
spmov	0,72**	5,46***	1,45	1,48
pbol	0,69	3,06*	1,02	1,57

*Differenze statisticamente significative (p<0,05)

**Differenze altamente significative (p<0,01)

***Differenze altissimamente significative (p<0,001)

Tabella 6.15 Medie (LSMEANS) ed effetto del gruppo sulle variabili boli di propofol aggiuntive (pbol) e movimenti spontanei (spmov).

	M	MB	MP
pbol	0,18641729	0,1576841	0,30510517
blink	1,28578541 ^a	1,17589125	1,02503198 ^b

^{a,b}Differenze statisticamente significative (p<0,05)

^{A,B}Differenze altamente significative (p<0,01)

n.s. non statisticamente significativo.

6.3. COMPARAZIONE TRA PRESSIONE RILEVATA CON METODO INVASIVO E NON INVASIVO

Rilevando la pressione arteriosa sia in modo invasivo che non invasivo, e prendendo le rilevazioni indirette sia dall'arto anteriore che posteriore, si è osservato che non ci sono state differenze statisticamente rilevanti (tabella 6.16) tra le tre modalità per quanto riguarda la pressione diastolica e media, mentre la pressione sistolica rilevata con metodo non invasivo dall'arto posteriore è apparsa statisticamente più alta (tabella 6.17; grafico 6.5).

Tabella 6.16 Risultati dell'analisi della varianza con test di Fisher per le variabili pressione sistolica, diastolica e media (sis, dia, med). I 4 fattori sperimentali considerati sono: gruppo (group), pecora (sheep), metodo di rilevazione della pressione (met), tempo (t) e gruppo per il tempo (group*t).

	group	sheep	met	t	group*t
sis	0,13606347	9,31***	58,41*	2,22	1,11
dia	0,08481452	12,56***	9,03	1,1	0,78
med	0,02729945	9,88***	5,59	1,34	0,65

*Differenze statisticamente significative (p<0,05)

**Differenze altamente significative (p<0,01)

***Differenze altissimamente significative (p<0,001)

Tabella 6.17 Effetto del metodo sulle variabili pressione sistolica (p<0,05), diastolica (n.s.) e media (n.s.) (sis, dia, med). I tre metodi sono: diretto (dire), indiretto dall'arto anteriore(inda), indiretto dall'arto posteriore (indp);

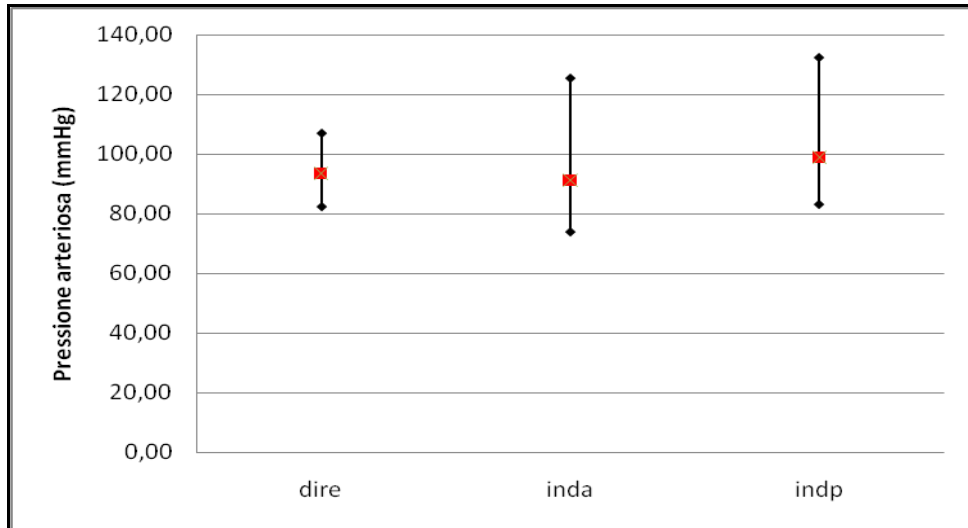
	dire	inda	indp
sis	106,85927 ^a	125,3141	132,380862 ^b
dia	82,4983204	73,8049	82,9616573
med	93,4484088	91,21973	98,9025769

^{a,b}Differenze statisticamente significative (p<0,05)

^{A,B}Differenze altamente significative (p<0,01)

n.s. non statisticamente significativo.

Grafico 6.5 Valori medi (LSMEANS) per le variabili pressione sistolica, diastolica e media (sis, dia, med) ottenute tramite misurazione diretta (dire), indiretta dall'arto anteriore (inda) e indiretta dall'arto posteriore (indp). La pressione sistolica e distolica sono rappresentate, rispettivamente, dagli estremi superiori e inferiori della linea; i valori di pressione media sono rappresentati dai puntini rossi.



7. DISCUSSIONE

Il propofol è un potente agente ipnotico, utilizzato sia come agente induttore in anestesia generale che come agente sedativo, in infusione continua o tramite boli ripetuti, per procedure poco invasive ma che richiedono che il paziente rimanga immobile (Seifert et al., 2000; Brosnan and Steffey, 2009; Hoener et al., 2008). Questo farmaco, infatti, è caratterizzato da una buona efficacia d'azione, seppur dose-dipendente, e da rapido risveglio (Seifert et al., 2000). Il propofol, tuttavia, può causare una forte depressione cardiovascolare e respiratoria (Brosnan and Steffey, 2009).

L'utilizzo di diversi farmaci sedativi in premedicazione può determinare non solo uno *sparing effect* (effetto di riduzione del consumo) sull'utilizzo del propofol, ma può anche ridurre e modificare gli effetti collaterali dello stesso (Sano et al., 2003). Nello specifico, in letteratura, è riportato un effetto sinergico di propofol e midazolam; l'utilizzo di questi due farmaci in combinazione permette di ridurre le dosi, fornendo una sedazione a basso impatto cardiovascolare adatta a pazienti critici e ad indagini di funzionalità cardiaca (Vuyk et al., 2009; Sano et al., 2002). In medicina umana, inoltre, è stato dimostrato che la combinazione di questi farmaci è legata ad un maggior grado di comfort per il paziente durante la sedazione (Seifert et al., 2000; Oxorn et al., 1997).

Nei piccoli ruminanti la somministrazione di midazolam, ai dosaggi utilizzati nello studio in questione, come unico agente sedativo, determina una sedazione non particolarmente profonda, altamente dose-dipendente e di grado imprevedibile in animali sani (Hall et al., 2001; Stegmann and Bester, 2001).

Gli oppioidi vengono utilizzati spesso in premedicazione per incrementare la tranquillizzazione ottenuta con altri farmaci sedativi; hanno anch'essi un effetto di riduzione del consumo di propofol e forniscono analgesia, dal momento che questo farmaco ipnotico ha scarso potere analgesico (Lichtenbelt et al., 2004).

Nello studio in discussione, per la premedicazione, si è scelto di usare una benzodiazepina, ed in particolare il midazolam, per i motivi sopra esposti; si è cercato di valutare, inoltre, l'effetto dell'aggiunta di due diversi oppioidi agonisti dei recettori κ e parziali agonisti μ nel protocollo, sui sistemi cardiovascolare e respiratorio e sulla qualità della sedazione, nonché sul consumo di propofol totale.

In entrambi i gruppi, i farmaci utilizzati in premedicazione hanno indotto un buono stato di tranquillizzazione e, in tutti i casi, è stato possibile maneggiare l'animale con facilità e senza pericolo per gli operatori. Una complicazione comune associata alla somministrazione endovenosa di midazolam e degli oppioidi, sempre per via endovenosa, in particolare di butorfanolo, è rappresentata dai cambiamenti comportamentali, che si manifestano come aumento della deambulazione afinalistica, movimenti oscillatori del capo e vocalizzazione. L'eccitazione post-somministrazione è stata osservata in 3 casi su 8 nel gruppo MB, in 2 casi su 7 nel gruppo MP e in 3 casi su 6 nel gruppo M, mentre l'aumento della vocalizzazione è stato osservato solo nel gruppo MB. L'atassia osservata nel presente studio risulta compatibile con gli effetti del midazolam a livello centrale. Questo farmaco, infatti, può determinare eccitazione a causa della perdita dei comportamenti inibitori acquisiti (Hall et al., 2001). L'aggiunta dell'oppioide nel protocollo non sembra aver inciso sull'effetto considerato. Con i dosaggi somministrati nel presente studio, in nessun caso è stato necessario un contenimento fisico o farmacologico aggiuntivo. In letteratura sono descritte, infatti, alterazioni comportamentali rilevanti e violente solo a dosaggi che superano $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ di butorfanolo, dosaggi superiori a quelli utilizzati nel nostro studio ($0,1 \text{ mg kg}^{-1}$ IV). L'agitazione, inoltre, può essere influenzata dal grado di stress che raggiunge l'animale prima della premedicazione (Hall et al., 2001), che nel nostro caso si è cercato di ridurre al minimo effettuando la tricotomia alcuni giorni prima della procedura e non separando le pecore fino al momento della premedicazione.

La perdita di stazione, successivamente alla somministrazione della premedicazione, si è osservata solo su 4 soggetti su 8 appartenenti al gruppo MB, 5 soggetti su 7 nel gruppo MP, e 2 su 6 nel gruppo M. I risultati ottenuti da questo studio sono in linea con quelli ricavati dalla letteratura, che descrivono la perdita di stazione con dosaggi pari a $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$, mentre alla nostra dose ($0,2 \text{ mg kg}^{-1}$) hanno avuto una sedazione di grado imprevedibile, con animali che continuamente passavano dallo stato di sedazione alla veglia (Kyles et al., 1995; Upton et al., 2009).

A differenza di quello che è maggiormente riportato in letteratura, si è scelto di sottoporre gli animali, prima della somministrazione della sedazione, ad un digiuno di solidi senza, però, privarli dell'accesso all'acqua. Questa scelta non ha influenzato la comparsa di effetti collaterali come rigurgito o timpanismo, frequentemente presenti nei piccoli ruminanti (Carrol et al., 1998). Il rigurgito e il timpanismo, che può essere accompagnato da un aumento della frequenza

cardiaca e respiratoria, e da una diminuzione della pressione arteriosa con desaturazione, non sono mai stati osservati durante le sedazioni valutate.

Sempre nei ruminanti, la somministrazione della maggior parte degli agenti anestetici comporta un aumento nella produzione di saliva (Fish et al., 2009). Nello studio in oggetto la scialorrea è stata osservata in misura maggiore nel gruppo M rispetto agli altri due gruppi e questa differenza è stata statisticamente molto rilevante. In letteratura questo effetto è riportato dopo somministrazione di midazolam, specialmente per via endovenosa; non è riportato, invece, un effetto di diminuzione della salivazione da parte degli oppioidi κ agonisti. Al contrario, ci si sarebbe aspettati una maggior incidenza di scialorrea nei gruppi con combinazione di midazolam e oppioide per un possibile effetto additivo dei farmaci. La scialorrea in nessun caso è stata particolarmente profusa, probabilmente perché anche se c'è stato un aumento nella produzione di saliva dovuto ai farmaci somministrati, la superficialità del piano sedativo ha comportato il fatto che per la maggior parte della procedura gli animali mantenevano il riflesso di deglutizione. Non si è mai verificato, quindi, un accumulo di saliva nella cavità orale particolarmente importante da richiedere l'intubazione dell'animale o l'aspirazione delle secrezioni salivari, per proteggere le vie aeree. Si è scelto, inoltre, di non utilizzare farmaci anticolinergici per contrastare questa produzione perché, in letteratura, è riportato che i dosaggi necessari per inibire la salivazione sono alti e potrebbero compromettere la funzionalità cardiovascolare, mentre dosaggi più bassi determinano solo un aumento della viscosità della saliva per diminuzione della sua componente acquosa. Inoltre i parasimpaticolitici, diminuendo la motilità gastro-intestinale, potrebbero favorire la comparsa di timpanismo (Tranquilli et al., 2007).

I parametri cardiovascolari e respiratori, per la maggior parte dell'infusione, si sono mantenuti entro i valori considerati normali nella pecora. I valori più alti devo essere valutati tenendo in considerazione che il piano di sedazione ottenuto tramite infusione continua di propofol (CRI, *constant rate infusion*) è stato leggero e continuamente interrotto dalla stimolazione della pressione dell'ecografo in area toracica e dal fatto che gli animali sono stati spesso soggetti a spostamenti e a cambi di decubito per poter effettuare al meglio l'ecocardiografia. Non si sono mai osservati episodi di bradicardia o di diminuzione della frequenza respiratoria durante l'infusione. E' stato dimostrato, infatti, che nonostante il propofol abbia un effetto depressante sul sistema cardiovascolare e respiratorio, essendo questi effetti dose-dipendenti, a dosaggi sub anestetici non sono particolarmente rilevanti (Correia et al, 1996, Carrol et

al., 1998; Ali et al., 1993). In letteratura è riportato che, con infusioni pari a 0,15-0,3-0,45 mg kg⁻¹ min⁻¹, il propofol non ha determinato compromissione cardiovascolare e infusioni pari a 0,2 mg kg⁻¹min⁻¹ non hanno determinato cianosi o cambiamenti nella saturazione dell'emoglobina (Ludbrook et al., 1999a).

Gli animali, per tutta la durata della procedura, hanno respirato aria ambientale. Il protocollo sperimentale prevedeva di somministrare ossigeno in maschera in caso di segni di desaturazione o di difficoltà respiratoria. Tutte le pecore hanno, tuttavia, respirato spontaneamente e in modo efficace e la saturimetria non ha mai raggiunto valori inferiori a 85% in nessuno dei tre protocolli. Scegliendo di infondere il propofol a basse dosi, si è evitato di incorrere in apnee dopo il bolo di carico.

Una frequenza cardiaca media statisticamente maggiore rispetto agli altri due gruppi, è stata registrata per il gruppo MP; tuttavia, la differenza, dal punto di vista clinico, non è stata rilevante. A spiegazione di questo, in letteratura, è riportato un effetto inotropo positivo della pentazocina a livello del miocardio, probabilmente dovuto all'interazione con i recettori beta adrenergici (Appleyard, 1975). La frequenza cardiaca più alta potrebbe anche essere conseguenza di un piano sedativo più superficiale; questo sembra essere confermato anche dalla maggior presenza, sempre nello medesimo gruppo, di movimenti spontanei durante la procedura e dal punteggio più basso, registrato per la rilevazione dell'ammiccamento (che corrisponde ad un piano di sedazione più superficiale). La differenza di movimenti spontanei del gruppo MP è statisticamente molto rilevante.

Non ci sono stati, però, a sostegno di questa ipotesi, valori differenti e statisticamente rilevanti di frequenza cardiaca e respiratoria. Incrementi di frequenza cardiaca e respiratoria sono, generalmente, correlati ad un alleggerimento del piano sedativo, il quale determina, anche, una maggiore reattività dell'animale agli stimoli esterni. In un solo soggetto appartenente al gruppo MB è stata osservata la presenza di sporadiche extrasistoli durante l'esame ecocardiografico. L'analisi statistica effettuata per il presente studio ha rilevato, quasi costantemente, come fattore sperimentale significativamente statistico, la "pecora " (quasi sempre il fattore sheep ha avuto valori di $p < 0,001$). Questo sta ad indicare che le differenze individuali hanno una forte influenza sull'effetto che i tre protocolli hanno sulle variabili studiate. Nel nostro studio è stato possibile eliminare questo che generalmente è chiamato "effetto animale",

facendo in modo che ogni animale rientrasse in ciascun gruppo e fosse sottoposto, quindi, a tutti e tre i protocolli. Le differenze individuali e gli eventi sporadici legati ad solo soggetto non hanno, quindi, nessuna rilevanza dal punto di vista statistico. In aggiunta, alla fine dell'esame ecografico è stato applicato alla pecora in questione un dispositivo elettrocardiografico dinamico (Holter) che monitora nelle 24h il battito cardiaco del paziente. Le extrasistoli non si sono più osservate, né nell'arco di queste 24h, né nelle successive sedazioni a cui è stata sottoposta la pecora.

I valori della pressione arteriosa sono stati sovrapponibili nei tre gruppi; non si sono mai verificati episodi di aumento o diminuzione della pressione arteriosa clinicamente rilevanti. L'ipotensione, dopo bolo endovenoso di propofol, è una complicazione riportata frequentemente in letteratura. In questo studio è stata scelta una bassa dose di carico e, per questo motivo, probabilmente questo effetto collaterale non è stato mai osservato.

Il livello di sedazione medio raggiunto nei tre gruppi durante tutta la procedura è stato 4,87 nel gruppo M, 4,89 nel gruppo MB e 4,5 nel gruppo MP. Il punteggio è stato ottenuto sommando i punti assegnati ad ogni variabile presa in considerazione per la valutazione della profondità della sedazione (ammiccamento, posizione dell'occhio, tono mandibolare, masticazione, deglutizione e apertura o chiusura dell'occhio, tabella 5.2). Questo sta ad indicare che, per la maggior parte della durata dell'infusione di propofol, i riflessi esaminati, in particolare l'ammiccamento, la masticazione e la deglutizione, sono rimasti presenti. In tutti i gruppi, durante l'infusione, si è raggiunto, quindi, un livello di sedazione definito "leggero" (secondo le linee guida dell'ASA, *l'American Society of Anesthesiologists*) in linea con quello che si era prefissato negli scopi dello studio. Il grado di sedazione, infatti, sebbene poco profondo, è stato comunque sufficiente a mantenere gli animali collaborativi per tutta la durata della procedura e, per lo più, immobili, in ambiente oscurato e in assenza di stimolazioni eccessive. In letteratura, per quanto riguarda la pecora, è riportato che dosaggi di propofol pari a $0,15 \text{ mg kg}^{-1} \text{ minuto}^{-1}$ (con un bolo di carico pari a 2 mg kg^{-1}) fino a $0,2 \text{ mg kg}^{-1} \text{ minuto}^{-1}$ (senza bolo di carico) hanno determinato, rispettivamente, una leggera e una profonda sedazione fino a un piano di anestesia superficiale nel secondo caso (Alon et al., 1993; Ludbrook et al., 1999a). Con il primo protocollo di infusione sono comunque rimasti presenti il riflesso palpebrale, la masticazione e i movimenti spontanei (Alon et al., 1993). Nel nostro studio, in cui il propofol è stato utilizzato somministrando un bolo di

carico di $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ IV seguito da un'infusione di $0,1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ IV , il livello di sedazione è risultato analogo a quanto riportato in letteratura

Durante l'infusione di propofol, in un solo soggetto appartenente al gruppo MP sono state osservate fascicolazioni, che si sono poi risolte spontaneamente in poco tempo. In letteratura è descritto per il propofol una complicazione di questo tipo, anche se il fatto che si sia verificata in un solo soggetto, non rende il risultato statisticamente rilevante.

Dopo aver interrotto l'infusione di propofol, tutti i soggetti hanno ripreso la stazione quadrupedale in tempi brevi. In tutti e tre i gruppi gli animali sono stati in grado di compiere il primo movimento spontaneo in meno di 2 minuti dall'interruzione dell'infusione di propofol e in meno di otto minuti tutti i soggetti sono riusciti a recuperare la stazione quadrupedale (tabella 6.11). Questo dipende dal fatto che il propofol ha una rapida eliminazione renale e un rapido metabolismo e che quest'ultimo, eccedendo il flusso epatico, sembra essere localizzato anche in siti extra-epatici, come il polmone (Tranquilli et al., 2007). Una breve fase di risveglio è molto importante nei ruminanti. In particolare è necessario che l'animale recuperi nel più breve tempo possibile il riflesso della deglutizione per ridurre il rischio di avere rigurgito (Prassinis et al., 2005): nel nostro caso, il leggero stato di sedazione mantenuto con i protocolli utilizzati, ha determinato il permanere del riflesso della deglutizione durante tutta la procedura. Inoltre se si crea timpanismo durante la sedazione, è necessario poter svegliare l'animale velocemente. La qualità della fase di risveglio è stata molto alta, con la sola eccezione di una pecora, appartenente al gruppo MP, che ha vocalizzato. Le differenze individuali legate al fattore "pecora" non hanno influenzato statisticamente i risultati dello studio. Si è potuto eliminare questo fattore facendo in modo che ogni pecora venisse sottoposta a ciascun protocollo. In nessun caso, comunque, è stato necessario intervenire farmacologicamente per tranquillizzare gli animali. In letteratura è riportata, tra le caratteristiche del propofol, a differenza di altri farmaci come la ketamina, una buona qualità di risveglio (Carrol et al., 1998; Prassinis et a., 2005).

Alla fine della procedura, per valutare la qualità della sedazione, si è ricorsi al metodo VAS, già precedentemente descritto. Il gruppo MP ha avuto una valutazione mediamente più bassa rispetto agli altri due gruppi, con giudizio peggiore da parte dell'anestesista. Per i gruppi MB e M le valutazioni della sedazione globale dell'anestesista e dell'operatore sono state sovrapponibili. La qualità è stata giudicata sia da un anestesista con esperienza nell'anestesia dei

piccoli ruminanti, sia da un operatore meno esperto, nello specifico l'autrice di questa tesi allo scopo di ridurre la soggettività del giudizio. Le differenze presenti tra le valutazioni dell'operatore e dell'anestesista, che si osservano soprattutto in premedicazione, dipendono probabilmente dalla diversa esperienza e dalla mancanza di rilevazioni per le prime giornate di sedazione. Si è deciso, infatti, solo a sperimentazione già iniziata, di introdurre questo metodo di valutazione.

Nella scelta del protocollo si è cercato di usare farmaci che avessero un minimo impatto sul sistema cardiovascolare e sui rilevamenti ecocardiografici in modo da non compromettere i risultati di questa indagine collaterale. E' stato dimostrato, infatti, che né midazolam né il propofol, ai dosaggi utilizzati nello studio in discussione, hanno influenzato la portata cardiaca (Upton et al., 2009). Dall'analisi statistica è emerso che, per le variabili considerate (gittata cardiaca, frazione di eiezione e portata cardiaca), non ci sono state differenze statisticamente significative tra i tre gruppi (tabella 6.13). I valori che abbiamo ottenuto, inoltre, rispecchiano i dati presenti in letteratura. In diversi studi dove veniva somministrato propofol a pecore a diversi dosaggi sono riportati valori compresi tra 4,2 e 5,6 litri minuto^{-1} per la portata cardiaca e valori pari a 0,05-0,06 litri per la gittata cardiaca (Upton and Ludbrook, 1997; Mather et al., 2004; Zeng et al., 2003). I valori di portata cardiaca più alti relativi al gruppo MP sono dovuti, probabilmente, alla frequenza cardiaca mediamente più alta presente in questo gruppo. La differenza, comunque, non è statisticamente rilevante.

Numerosi autori sono concordi nell'affermare che l'utilizzo di midazolam e di oppioidi in premedicazione ha un effetto di riduzione del consumo di propofol (*sparing effect*), e che questa combinazione permette di ottenere gli stessi effetti sedativi con dosi di farmaco minori e con una minore incidenza di eventi collaterali (Milne et al., 2003; Fanti et al., 2007; Sano et al., 2003). Nel presente studio si è voluto verificare se l'aggiunta di un oppioide al midazolam in premedicazione avesse uno *sparing effect* additivo sul propofol rispetto all'utilizzo del solo midazolam. Durante la procedura si sono somministrati boli aggiuntivi di propofol se gli animali facevano tre o più movimenti spontanei nell'arco di un minuto. Analizzando il numero totale di questi boli è risultato che non ci sono state differenze statisticamente significative rispetto alla quantità di propofol somministrata nei tre gruppi. Rispetto a quello che è riportato in letteratura, quindi, relativamente al consumo di propofol, non sembra esserci un vantaggio nella somministrazione di un oppioide κ agonista in aggiunta alla benzodiazepina. Si deve tuttavia considerare che nel nostro caso non vi era

alcuna stimolazione dolorifica e che forse l'utilizzo dell'oppioide potrebbe avere uno *sparing effect* nelle procedure che comportano stimolazione algica.

Durante l'infusione di propofol la pressione arteriosa è stata monitorata sia in modo diretto che indiretto. Le rilevazioni indirette sono state prese con metodo oscillometrico sia dall'arto anteriore che dal posteriore. Il metodo considerato *gold standard* e il più accurato per la rilevazione pressoria è il diretto, detto anche invasivo, specialmente in caso di ipotensione o ipertensione. Inoltre solo con questa tecnica si può ottenere un tracciato dell'onda pressoria in continuo e questo permette all'anestesista di accorgersi in maniera più immediata di aumenti o diminuzioni importanti della pressione arteriosa (Deflandre and Hellebrekers, 2008). La misurazione indiretta con metodo oscillometrico, invece, è più suscettibile ad artefatti che possono alterare la lettura della pressione e a fattori (come la dimensione o la posizione del manicotto) che possono portare ad una sovra o sottostima di questa (Deflandre and Hellebrekers, 2008). Dall'analisi statistica effettuata è emerso che non ci sono state differenze statisticamente rilevanti tra i dati provenienti dalla misurazione diretta e dalla indiretta anteriore, mentre la pressione sistolica misurata in modo indiretto dall'arto posteriore è risultata statisticamente superiore alla pressione sistolica invasiva.

Studi precedenti, che si sono occupati di comparare i diversi metodi di rilevazione della pressione arteriosa nel cane, hanno dimostrato che le rilevazioni indirette provenienti dall'arto anteriore forniscono dati più attendibili e meglio comparabili a quelli ricavati tramite misurazione diretta della pressione (Bodey et al., 1996; Gains et al., 1995). I valori di pressione indiretta che, generalmente, sono meno accurati e meno sovrapponibili a quelli ottenuti con la rilevazione diretta riguardano la pressione sistolica, mentre i valori di pressione media e diastolica sono più vicini a quelli ricavati in modo invasivo. Questo si verifica soprattutto in caso di ipertensione (Caulkett et al., 1998).

In aggiunta è stato dimostrato che, a differenza del metodo indiretto, la rilevazione diretta non è influenzata dal decubito del paziente, se la procedura viene eseguita correttamente e se l'azzeramento del sistema viene effettuato ogni volta che viene modificato il posizionamento del soggetto (Briganti et al., 2003).

I limiti di questa analisi comparativa tra i due metodi di misurazione della pressione arteriosa riguardano sia la scarsa numerosità delle rilevazioni indirette (non è sempre stato possibile prendere un numero significativo di rilevazioni da ogni animale), sia il fatto per l'arto anteriore e il posteriore è stato usato un manicotto delle stesse dimensioni. E' probabile che nell'arto posteriore la

dimensione del manicotto fosse leggermente inferiore a quella richiesta e che questo possa aver determinato una sovrastima della pressione sistolica.

Un limite rilevante dello studio in esame è stato sicuramente la scarsa numerosità del campione statistico. Sarebbe stato necessario, infatti, per avere una maggiore accuratezza dei dati raccolti, incrementare la numerosità dei gruppi e questo soprattutto per quanto riguarda il gruppo M (n=6). Le variabili che sicuramente hanno risentito maggiormente di questo sono state la VAS e la misurazione indiretta della pressione arteriosa.

Un altro limite è rappresentato dal fatto che non è stato previsto un gruppo di controllo, che ricevesse, quindi, solo soluzione fisiologica in premedicazione. La scelta di non includere il gruppo in questione è stata decretata da motivazioni pratiche; sarebbe stato difficile, con i dosaggi utilizzati di propofol, senza alcuna premedicazione, riuscire a svolgere la procedura ecocardiografica in completa sicurezza per gli operatori e senza arrecare un livello di stress importante all'animale.

La rilevazione di temperatura rettale è stata fatta solo all'inizio della procedura. Si è scelto di non ripetere la misurazione del parametro fisiologico data la breve durata della procedura e la bassa dose di farmaci somministrata. In nessun caso, comunque, sono stati osservati nelle pecore segni clinici imputabili ad ipotermia come di mostra il rapido risveglio; sappiamo infatti che l'ipotermia determina una riduzione del metabolismo ed un prolungamento dei tempi di risveglio (Tranquilli et al., 2007).

8. CONCLUSIONI

Lo scopo principale dello studio in questione è stato quello di ricercare un protocollo adatto all'esecuzione dell'indagine ecocardiografica in un gruppo di pecore appartenenti ad un progetto di ricerca che ha unito la facoltà di Medicina Veterinaria e la Cardiologia Pediatrica, volto a studiare l'impatto emodinamico dell'inserimento di uno *stent* aortico metallico in un modello animale ovino. La pecora è, da anni, riconosciuta come modello animale ideale nella ricerca cardiovascolare. Questo ha spinto numerosi autori a ricercare protocolli farmacologici che fossero adeguati a questa specie animale e che avessero un impatto minimo sui parametri cardiovascolari.

La maggior parte dei farmaci utilizzati in sedazione ed in anestesia hanno un effetto depressivo importante sul sistema cardiovascolare e respiratorio. Per questo motivo è stato scelto un protocollo farmacologico che permettesse di mantenere l'animale in uno stato di sedazione tale da riuscire a portare a termine la procedura diagnostica con il minimo disagio da parte del paziente e in completa sicurezza per gli operatori, ma che, allo stesso tempo, non avesse un impatto importante sui sistemi cardiovascolare e respiratorio e che influenzasse in maniera poco rilevante i parametri cardiaci misurati nel corso dell'indagine.

L'ecocardiografia è una procedura poco invasiva, questa non richiede un particolare sostegno analgesico e determina una stimolazione minima sull'animale legata soprattutto all'aggiustamento della posizione del soggetto sul tavolo ecocardiografico, al cambio di decubito a metà della procedura e alla pressione della sonda a livello dell'area toracica. Per tali motivi è una procedura che può essere eseguita in sedazione, piuttosto che in anestesia generale.

Il protocollo scelto è stato un'infusione continua di propofol (*constant rate infusion*, CRI), il quale ha prodotto una sedazione caratterizzata da una rapida induzione, dalla possibilità di correggere velocemente il livello di sedazione, dall'assenza di eventi avversi durante l'infusione e da un rapido risveglio, di buona qualità. Per questi motivi una CRI di propofol si è dimostrata essere un metodo particolarmente adatto agli scopi prefissati e si è rivelato sicuro per la sedazione di piccoli ruminanti che devono essere sottoposti a procedure diagnostiche non invasive.

La somministrazione in premedicazione della benzodiazepina da sola o in combinazione con un oppioide agonista dei recettori κ e agonista parziale dei recettori μ non ha portato nessuna differenza sostanziale in merito alla profondità di sedazione raggiunta e al consumo di propofol totale. Tutti e tre i protocolli testati sono stati caratterizzati da livelli cardiovascolari e respiratori stabili senza conseguenze rilevanti sui parametri ecocardiografici.

Si può quindi concludere che nei pazienti o nelle procedure che richiedono un minimo impatto sui parametri cardiovascolari, sia il midazolam da solo che la combinazione midazolam-oppioide, forniscono una sedazione qualitativamente sovrapponibile e adatta agli scopi. Non ci sono quindi, in procedure non invasive, particolari vantaggi derivanti dall'aggiunta dell'oppioide.

Dall'analisi comparativa riguardo ai metodi di misurazione della pressione, è emerso che la misurazione indiretta dall'arto anteriore è un metodo molto accurato e fornisce dati sovrapponibili al metodo *gold standard*.

BIBLIOGRAFIA

- Adams, H. R. (1999). *Farmacologia e terapeutica veterinaria* (2nd ed.). Roma: E.M.S.I.
- Ahlgren, E. W., & Stephen, C. R. Laboratory and clinical experience with a new analgesic--pentazocine. *Anesthesia Analgesia*, 45(5), 673.
- Ali, M. L., Kumar, S. P., Bjornstad, K., & Duran, C. M. (1996). The sheep as an animal model for heart valve research. *Cardiovascular Surgery*, 4(4), 543.
- Appleyard, T. N. (1975). Effects of pentazocine on cardiac function. *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, 68(12), 770.
- Bettschart-Wolfensberger, R., Semder, A., Alibhai, H., Demuth, D., Alliabadi, F. S., & Clarke, K. W. (2000). Cardiopulmonary side-effects and pharmacokinetics of an emulsion of propofol (disoprivan) in comparison to propofol solved in polysorbate 80 in goats. *Journal of Veterinary Medicine*, 47(6), 341.
- Blaze, C. A., LeBlanc, P. H., & Robinson, N. E. (1988). Effect of withholding feed on ventilation and the incidence of regurgitation during halothane anesthesia of adult cattle. *American Journal of Veterinary Research*, 49(12), 2126.
- Bodey, A. R., Michell, A. R., Bovee, K. C., Buranakurl, C., & Garg, T. (1996). Comparison of direct and indirect (oscillometric) measurements of arterial blood pressure in conscious dogs. *Research in Veterinary Science*, 61(1), 17.
- Briganti, A., Melanie, P., & Breggi, G. (2005). Valutazione comparativa tra pressione arteriosa invasiva e non invasiva nel cane durante l'anestesia. *Annali Della Facoltà Di Medicina Veterinaria Di Parma*,
- Brosnan, R., & Steffey, E. (2009). Sedative effects of propofol in horses. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 36(5), 421.
- Bruhn, J., Myles, P. S., Sneyd, R., & Struys, M. M. R. F. (2006). Depth of anaesthesia monitoring: What's available, what's validated and what's next? *British Journal of Anaesthesia*, 97(1), 85.

- Buehrer, S., Immoos, S., Frei, M., Timmermann, B., & Weiss, M. (2007). Evaluation of propofol for repeated prolonged deep sedation in children undergoing proton radiation therapy. *British Journal of Anaesthesia*, 99(4), 556.
- Carroll, G. L., Hartsfield, S. M., Champney, T. H., Slater, M. R., & Newman, J. A. (1998). Stress-related hormonal and metabolic responses to restraint, with and without butorphanol administration, in pre-conditioned goats. *Laboratory Animal Science*, 48(4), 387.
- Carroll, G., Hartsfield, S., & Hambleton, R. (1997). Anesthetic effects of tiletamine-zolazepam, alone or in combination with butorphanol, in goats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 211(5), 593.
- Carroll, G., Hooper, R., Slater, M., Hartsfield, S., & Matthews, N. (1998). Detomidine-butorphanol-propofol for carotid artery translocation and castration or ovariectomy in goats. *Veterinary Surgery*, 27(1), 75.
- Caulkett, N., Cantwell, S., & Houston, D. (1998). A comparison of indirect blood pressure monitoring techniques in the anesthetized cat. *Veterinary Surgery*, 27(4), 370.
- Celly, C. S., McDonnell, W. N., & Black, W. D. (1999). Cardiopulmonary effects of the alpha2-adrenoceptor agonists medetomidine and ST-91 in anesthetized sheep. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 289(2), 712.
- Chittick, E., Horne, W., Wolfe, B., Sladky, K., & Loomis, M. (2001). Cardiopulmonary assessment of medetomidine, ketamine, and butorphanol anesthesia in captive thomson's gazelles (*gazella thomsoni*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 32(2), 168.
- Cho, J. E., Kim, W. O., Chang, D. J., Choi, E. M., Oh, S. Y., & Kil, H. K. (2009). Titrated propofol induction vs. continuous infusion in children undergoing magnetic resonance imaging. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*,

- Collan, R. Anesthetic and paraoperative management of sheep for total heart replacement. *Anesthesia Analgesia*, 49(2), 336.
- Corletto, F. (2004). *Anestesia del cane e del gatto* (italiana ed.) Poletto Editore.
- Correia, D. A., Nolan, A. M. [a., & Reid, J. A. (1996). Pharmacokinetics of propofol infusions, either alone or with ketamine, in sheep premedicated with acepromazine and papaveretum. *Research in Veterinary Science*, 60(3), 213.
- De Razza, P., Leonardi, F., Zanichelli, S., & Botti, P. (2004, Anestesia generale della pecora in cardiocirurgia sperimentale. *Annali Della Facoltà Di Medicina Veterinaria, Università Di Padova, Vol. XXIV*
- Deflandre, C. J. A., & Hellebrekers, L. (2008). Clinical evaluation of the surgivet V60046, a non invasive blood pressure monitor in anaesthetized dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 35(1), 13.
- Deloach, L. J., Higgins, M. S., Caplan, A. B., & Stiff, J. L. (1998). The visual analog scale in the immediate postoperative period: Intrasubject variability and correlation with a numeric scale. *Anesthesia Analgesia*, 86(1), 102.
- Dzikiti, T. B., Stegmann, G. F., Hellebrekers, L. J., Auer, R. E. J., & Dzikiti, L. N. (2009). Sedative and cardiopulmonary effects of acepromazine, midazolam, butorphanol, acepromazine-butorphanol and midazolam-butorphanol on propofol anaesthesia in goats. *Journal of the South African Veterinary Association*, 80(1), 10.
- Fanti, L., Agostoni, M., Arcidiacono, P. G., Albertin, A., Strini, G., Carrara, S., et al. (2007). Target-controlled infusion during monitored anesthesia care in patients undergoing EUS: Propofol alone versus midazolam plus propofol. A prospective double-blind randomised controlled trial. *Digestive and Liver Disease*, 39(1), 81.
- Fish, R. E., Brown, M. J., Danneman, P. J., & Karas, A. Z. (2008). *Anesthesia and analgesia in laboratory animals* (second edition ed.) Elsevier Academic press.

- Gains, M. J., Grodecki, K. M., Jacobs, R. M., Dyson, D., & Foster, R. A. (1995). Comparison of direct and indirect blood pressure measurements in anesthetized dogs. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 59(3), 238.
- Gan, T. (2006). Pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of medications used for moderate sedation. *Clinical Pharmacokinetics*, 45(9), 855.
- Gare, M., Parail, A., Milosavljevic, D., Kersten, J. R. , Warltier, D. C. (2001). Conscious sedation with midazolam or propofol does not alter left ventricular diastolic performance in patients with preexisting diastolic dysfunction: A transmitral and tissue doppler transthoracic echocardiography study. *Anesthesia Analgesia*, 93(4), 865.
- Glowaski, M. M., & Wetmore, L. A. (1999). Application in veterinary sedation and anesthesia. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 14(1), 1.
- Grant, C., Upton, R. N., & Kuchel, T. R. (1996). Efficacy of intra-muscular analgesics for acute pain in sheep. *Australian Veterinary Journal*, 73(4), 129.
- Hall, L. W., Clarke, K. W., & Trim, C. M. (2001). *Veterinary anaesthesia* Saunders WB.
- Hall, J. E., Uhrich, T. D., Barney, J. A., Arain, S. R., & Ebert, T. J. (2000). Sedative, amnestic, and analgesic properties of small-dose dexmedetomidine infusions. *Anesthesia Analgesia*, 90(3), 699.
- Ho, C., Tarng, G., & Su, C. (2007). Comparison of effects of propofol and midazolam at sedative concentrations on sympathetic tone generation in the isolated spinal cord of neonatal rats. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 51(6), 708.
- Höhener, D., Blumenthal, S., & Borgeat, A. (2008). Sedation and regional anaesthesia in the adult patient. *British Journal of Anaesthesia*, 100(1), 8.
- Howard, B. W., Lagutchik, M. S., Januszkiewicz, A. J., & Martin, D. G. The cardiovascular response of sheep to tiletamine-zolazepam and butorphanol tartrate anesthesia. *Veterinary Surgery*, 19(6), 461.

- Johansen, M., Gradert, T., Satterfield, W., Baze, W., Hildebrand, K., Trissel, L., et al. (2004). Safety of continuous intrathecal midazolam infusion in the sheep model. *Anesthesia Analgesia*, 98(6), 1528.
- Karan, S., & Bailey, P. (2004). Update and review of moderate and deep sedation. *Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America*, 14(2), 289.
- Kastner, S. (2006). A(2)-agonists in sheep: A review. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 33(2), 79.
- Kilic, N. (2008). Cardiopulmonary, biochemical, and haematological changes after detomidine-midazolam-ketamine anaesthesia in calves. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 52(3), 453.
- 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(6), 1780.
- Kyles, A. E., Waterman, A. E., & Livingston, A. (1993). The spinal antinociceptive activity of the alpha 2-adrenoceptor agonist, xylazine in sheep. *British Journal of Pharmacology*, 108(4), 907.
- Kyles, A. E., Waterman, A. E., & Livingston, A. (1995). Antinociceptive activity of midazolam in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 18(1), 54.
- Larenza, M. P., Bergadano, A., Iff, I., Doherr, M., & Schatzmann, U. (2005). Comparison of the cardiopulmonary effects of anesthesia maintained by continuous infusion of ketamine and propofol with anesthesia maintained by inhalation of sevoflurane in goats undergoing magnetic resonance imaging. *American Journal of Veterinary Research*, 66(12), 2135.
- Larenza, M. P., Bergadano, A., Iff, I., Doherr, M., & Schatzmann, U. (2005). Comparison of the cardiopulmonary effects of anesthesia maintained by continuous infusion of ketamine and propofol with anesthesia maintained by

- inhalation of sevoflurane in goats undergoing magnetic resonance imaging. *American Journal of Veterinary Research*, 66(12), 2135.
- Larenza, M. P., Bergadano, A., Iff, I., Doherr, M., & Schatzmann, U. (2005). Comparison of the cardiopulmonary effects of anesthesia maintained by continuous infusion of ketamine and propofol with anesthesia maintained by inhalation of sevoflurane in goats undergoing magnetic resonance imaging. *American Journal of Veterinary Research*, 66(12), 2135.
- Lichtenbelt, B., Mertens, M., & Vuyk, J. (2004). Strategies to optimise propofol-opioid anaesthesia. *Clinical Pharmacokinetics*, 43(9), 577.
- Lin, H. [a., Purohit, R. C. [., & Powe, T. A. [. (1997). Anesthesia in sheep with propofol or with xylazine-ketamine followed by halothane. *Veterinary Surgery*, 26(3), 247.
- Ludbrook, G. L., Upton, R. N., Grant, C., & Gray, E. C. (1996). Brain and blood concentrations of propofol after rapid intravenous injection in sheep, and their relationships to cerebral effects. *Anaesthesia and Intensive Care*, 24(4), 445.
- Ludbrook, G. L., Upton, R. N., Grant, C., & Martinez, A. (1998). The effect of rate of administration on brain concentrations of propofol in sheep. *Anesthesia Analgesia*, 86(6), 1301.
- Ludbrook, G. L., Upton, R. N., Grant, C., & Martinez, A. (1999b). A compartmental analysis of the pharmacokinetics of propofol in sheep. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 27(3), 329.
- Ludbrook, G. L., Upton, R. N., Grant, C., & Martinez, A. (1999a). Prolonged dysequilibrium between blood and brain concentrations of propofol during infusions in sheep. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 43(2), 206.
- Maduska, A. L., Pittman, K. A., Ahokas, R. A., Anderson, G. D., Lipshitz, J., Morrison, J. C., et al. (1980). Placental transfer and other physiologic studies with intravenous butorphanol in the anesthetized pregnant ewe. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology*, 29(2), 229.

- Malviya, S., Voepel-Lewis, T., Tait, A. R., Merkel, S., Tremper, K., & Naughton, N. (2002). Depth of sedation in children undergoing computed tomography: Validity and reliability of the university of michigan sedation scale (UMSS). *British Journal of Anaesthesia*, 88(2), 241.
- Mather, L., Duke, C., Ladd, L., Copeland, S., Gallagher, G., & Chang, D. H. T. (2004). Direct cardiac effects of coronary site-directed thiopental and its enantiomers: A comparison to propofol in conscious sheep. *Anesthesiology*, 101(2), 354.
- McKeage, K., & Perry, C. (2003). Propofol: A review of its use in intensive care sedation of adults. *CNS Drugs*, 17(4), 235.
- Milne, S. E., Kenny, G. N. C., & Schraag, S. (2003). Propofol sparing effect of remifentanyl using closed-loop anaesthesia. *British Journal of Anaesthesia*, 90(5), 623.
- Mir, S. A., Nazki, A. R., & Raina, R. (2000). Comparative electrocardiographic studies, and differing effects of pentazocine on ECG, heart and respiratory rates in young sheep and goats. *Small Ruminant Research*, 37(1/2), 13.
- Mortola, J., & Lanthier, C. (2005). Breathing frequency in ruminants: A comparative analysis with non-ruminant mammals. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, 145(2-3), 265.
- O'Hair, K. O., Dodd, K. T., Phillips, Y. Y., & Beattie, R. J. (1988). Cardiopulmonary effects of nalbuphine hydrochloride and butorphanol tartrate in sheep. *Laboratory Animal Science*, 38(1), 58.
- Oxorn, D. C., Ferris, L. E., Harrington, E., & Orser, B. A. (1997). The effects of midazolam on propofol-induced anesthesia: Propofol dose requirements, mood profiles, and perioperative dreams. *Anesthesia Analgesia*, 85(3), 553.
- Pablo, L. S., Bailey, J. E., & Ko, J. C. (1997). Median effective dose of propofol required for induction of anaesthesia in goats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 211(1), 86.

- Paul-Dauphin, A., Guillemin, F., Virion, J. M., & Briançon, S. (1999). Bias and precision in visual analogue scales: A randomized controlled trial. *American Journal of Epidemiology*, *150*(10), 1117.
- Practice guidelines for sedation and analgesia by non-anesthesiologists.(2002). *Anesthesiology*, *96*(4), 1004.
- Prassinis, N., Galatos, A., & Raptopoulos, D. (2005). A comparison of propofol, thiopental or ketamine as induction agents in goats. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, *32*(5), 289.
- Raekallio, M., Tulamo, R. M., & Valtamo, T. (1998). Medetomidine-midazolam sedation in sheep. *Acta Veterinaria Scandinavica*, *39*(1), 127.
- Reid, J., Nolan, A. M., & Welsh, E. (1993). Propofol as an induction agent in the goat: A pharmacokinetic study. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, *16*(4), 488.
- 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. *The Journal of Veterinary Medical Science*, *65*(10), 1141.
- Schauvliege, S., Narine, K., Bouchez, S., Desmet, D., Van Parys, V., Van Nooten, G., et al. (2006). Refined anaesthesia for implantation of engineered experimental aortic valves in the pulmonary artery using a right heart bypass in sheep. *Laboratory Animals*, *40*(4), 341.
- Seifert, H., Schmitt, T. H., Gültekin, T., Caspary, W. F., & Wehrmann, T. (2000). Sedation with propofol plus midazolam versus propofol alone for interventional endoscopic procedures: A prospective, randomized study. *Alimentary Pharmacology Therapeutics*, *14*(9), 1207.
- Seymour, C., & Duke-Novakovsky, T. (2007). *BSAVA manual of canine and feline anaesthesia and analgesia* (2nd ed.) Gloucester: British small animal veterinary association, c2007.

- Slingsby, L., Taylor, P., & Monroe, T. (2009). Thermal antinociception after dexmedetomidine administration in cats: A comparison between intramuscular and oral transmucosal administration. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, *11*(10), 829.
- Stegmann, G. F. (1998). Observations on the use of midazolam for sedation, and induction of anaesthesia with midazolam in combination with ketamine in the goat. *Journal of the South African Veterinary Association*, *69*(3), 89.
- Stegmann, G. F. (1999). Observations on some cardiopulmonary effects of midazolam, xylazine and a midazolam/ketamine combination in the goat. *Journal of the South African Veterinary Association*, *70*(3), 122.
- Stegmann, G. F., & Betsler, I. (2001) Sedative-hypnotic effects of midazolam in goats after intravenous and intramuscular administration. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, *28*, 49-55.
- Taylor, P. M. (1991). Anaesthesia in sheep and goats. *In Practice*, *13*(1), 31.
- Tranquilli, W. J., Thurmon, J. C., & Grimm, C. A. (2007). *Lumb & Jones' veterinary anesthesia and analgesia* (Fourth Edition ed.) Blackwell Publishing.
- Upton, R. N., & Ludbrook, G. L. (1997). A physiological model of induction of anaesthesia with propofol in sheep. 1. structure and estimation of variables. *British Journal of Anaesthesia*, *79*(4), 497.
- Upton, R. N., Ludbrook, G. L., Grant, C., & Doolette, D. J. (2000). The effect of altered cerebral blood flow on the cerebral kinetics of thiopental and propofol in sheep. *Anesthesiology*, *93*(4), 1085.
- Upton, R. N., Martinez, A. M., & Grant, C. (2009). Comparison of the sedative properties of CNS 7056, midazolam, and propofol in sheep. *British Journal of Anaesthesia*, *103*(6), 848.
- Valtolina, C., Robben, J., Uilenreef, J., Murrell, J., Aspegrén, J., McKusick, B., et al. (2009). Clinical evaluation of the efficacy and safety of a constant rate

- infusion of dexmedetomidine for postoperative pain management in dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 36(4), 369.
- Van Vliet, B. N., Chafe, L. L., Antic, V., Schnyder-Candrian, S., & Montani, J. (2000). Direct and indirect methods used to study arterial blood pressure. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 44(2), 361.
- Vuyk, J., Lichtenbelt, B., Olofsen, E., van Kleef, J., & Dahan, A. (2009). Mixed-effects modeling of the influence of midazolam on propofol pharmacokinetics. *Anesthesia Analgesia*, 108(5), 1522.
- Walker, D. J., Zacny, J. P., Galva, K. E., & Lichtor, J. L. (2001). Subjective, psychomotor, and physiological effects of cumulative doses of mixed-action opioids in healthy volunteers. *Psychopharmacology*, 155(4), 362.
- Waterman, A. E., Livingston, A., & Amin, A. (1991). Analgesic activity and respiratory effects of butorphanol in sheep. *Research in Veterinary Science*, 51(1), 19.
- Wewers, M. E., & Lowe, N. K. (1990). A critical review of visual analogue scales in the measurement of clinical phenomena. *Research in Nursing Health*, 13(4), 227.
- Whelan, G., & Flecknell, P. A. (1992). The assessment of depth of anaesthesia in animals and man. *Laboratory Animals*, 26(3), 153.
- White, K., & Taylor, P. (2000). Anaesthesia in sheep. *In Practice*, 22(3), 126.
- Zheng, D., Upton, R. N., Martinez, A. M., Grant, C., & Ludbrook, G. L. (1998). The influence of the bolus injection rate of propofol on its cardiovascular effects and peak blood concentrations in sheep. *Anesthesia Analgesia*, 86(5), 1109.
- Zheng, D., Upton, R., & Martinez, A. (2003). The contribution of the coronary concentrations of propofol to its cardiovascular effects in anesthetized sheep. *Anesthesia Analgesia*, 96(6), 1589.