



Uniwersytet Medyczny  
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Iwona Zawidzka-Bielska

**CHRONOFARMAKOKINETYCZNE BADANIA PROPOFOLU**

Promotor

Prof. dr hab. n. farm. Edmund Grześkowiak

Poznań 2012

Słowa kluczowe:

- propofol,
- lidokaina,
- bupiwakaina,
- chronobiologia,
- farmakokinetyka,
- interakcje.

Praca przedstawiona  
Radzie Wydziału Farmaceutycznego  
Uniwersytetu Medycznego  
im. Karola Marcinkowskiego  
w Poznaniu  
celem uzyskania stopnia  
doktora nauk farmaceutycznych  
przez  
Iwonę Zawidzką-Bielską

**Praca wykonana w Katedrze i Zakładzie Farmacji Klinicznej i Biofarmacji  
Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego  
w Poznaniu**

przy współpracy

Zakładu Dydaktyki Anestezjologii i Intensywnej Terapii

oraz

Katedry i Zakładu Chemii Nieorganicznej i Analitycznej

Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego

w Poznaniu

*Serdecznie dziękuję:*

*Panu Prof. dr hab. **Edmundowi Grześkowiakowi** za życzliwą pomoc, cenne wskazówki  
oraz opiekę promotorską*

*Pani dr n. farm. **Agnieszce Bienert** za nieocenioną pomoc na wszystkich etapach  
powstawania pracy, optymizm, poświęcony czas i cenne wskazówki*

*Panu dr n. med. **Włodzimierzowi Płotkowi** za pomoc w realizacji doświadczalnej części  
pracy*

*Pani dr **Monice Balcerkiewicz**, Pani dr **Hannie Urjasz***

*oraz*

*Pracownikom Katedry i Zakładu Farmacji Klinicznej i Biofarmacji Uniwersytetu  
Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu za pomoc w realizacji  
doświadczalnej części pracy*

*Szczególne podziękowania dla mojej  
rodziny,  
dla **Męża** za pomoc i wyrozumiałość,  
dla **Babci** za motywację,  
dla **Rodziców i Dziadka** za wielkie wsparcie*

*Pracę dedykuję Synkowi*

## Spis treści

Zastosowane skróty	11
<b>I. Wstęp i cel pracy</b>	13
<b>II. Część teoretyczna</b>	15
1. Chronobiologia	15
1.1. Podstawowe pojęcia chronobiologii	15
1.1.1. Rytmy biologiczne	15
1.1.2. Zegar biologiczny	16
1.1.3. Chronibiotyki	18
1.2. Chronofarmakologia	18
1.2.1. Chronofarmakokinetyka	18
1.2.2. Chronofarmakodynamika	20
1.2.3. Chronoterapia	20
1.3. Chronobiologia w anestezji	22
1.3.1. Anestetyki lokalne	23
1.3.2. Anestetyki działające ogólnie	24
1.3.3. Zależność rytmiki cirkadianej od anestezji	26
2. Propofol	27
2.1. Budowa i właściwości fizykochemiczne	27
2.2. Mechanizm działania farmakologicznego	28
2.3. Farmakokinetyka	30
2.4. Właściwości farmakologiczne i zastosowanie	33
2.5. Działania niepożądane	36
2.6. Interakcje	38
3. Środki znieczulające miejscowo – lidokaina i bupiwakaina	41
3.1. Mechanizm działania	41
3.2. Budowa i właściwości fizykochemiczne środków miejscowo znieczulających – lidokainy i bupiwakainy	43
3.2.1. Budowa i właściwości fizykochemiczne lidokainy	43
3.2.2. Budowa i właściwości fizykochemiczne bupiwakainy	44
3.3. Farmakokinetyka	45
3.3.1. Farmakokinetyka lidokainy	45

3.3.2. Farmakokinetyka bupiwakainy	47
3.4. Właściwości farmakologiczne leków miejscowo znieczulających – lidokainy i bupiwakainy	48
3.5. Zastosowanie kliniczne	49
3.6. Działania niepożądane	50
3.6.1. Lidokaina – działania niepożądane	50
3.6.2. Bupiwakaina – działania niepożądane	51
3.7. Interakcje wybranych leków miejscowo znieczulających – lidokainy i bupiwakainy	52
<b>III. Materiał i metody</b>	<b>56</b>
Metodyka badań	56
1. Wpływ godziny podania na farmakokinetykę propofolu u królików	57
1.1. Program badań	57
1.2. Metodyka oznaczania propofolu w osoczu krwi królików	57
1.2.1. Aparatura	58
1.2.2. Odczynniki	58
1.2.3. Przygotowanie roztworów pomocniczych	59
1.2.4. Przygotowanie próbek osocza krwi królików	59
1.2.5. Wykonanie krzywej wzorcowej	60
1.2.6. Warunki analityczne	60
1.3. Walidacja metody oznaczania propofolu	61
1.3.1. Specyficzność	61
1.3.2. Liniowość i LLOQ	61
1.3.3. Precyzja	62
1.3.4. Dokładność	62
1.3.5. Odzysk	62
1.3.6. Stabilność	62
2. Interakcje propofolu z wybranymi lekami miejscowo znieczulającymi	64
2.1. Wpływ propofolu na metabolizm lidokainy	64
2.1.2. Program badań	64
2.1.3. Metodyka oznaczania lidokainy	64
2.1.3.1. Aparatura	65
2.1.3.2. Odczynniki i substancje wzorcowe do oznaczeń	65



2.1.3.3. Przygotowanie roztworów pomocniczych	66
2.1.3.4. Przygotowanie próbek osocza krwi królików	67
2.1.3.5. Wykonanie krzywej wzorcowej	67
2.1.3.6. Warunki analityczne	67
2.2. Wpływ propofolu na metabolizm bupiwakainy	68
2.2.1. Program badań	68
2.2.2. Metodyka oznaczania bupiwakainy i jej metabolitu PPX	68
2.2.2.1. Aparatura	69
2.2.2.2. Odczynniki i substancje wzorcowe do oznaczeń	69
2.2.2.3. Przygotowanie roztworów pomocniczych	70
2.2.2.4. Przygotowanie próbek osocza krwi królików	72
2.2.2.5. Wykonanie krzywej wzorcowej	72
2.2.2.6. Warunki analityczne	72
2.3. Walidacja metod oznaczania lidokainy, bupiwakainy i PPX	74
2.3.1. Selektywność	74
2.3.2. Liniowość	74
2.3.3. Precyzja	75
2.3.4. Dokładność	76
2.3.5. Granica detekcji (LOD)	78
2.3.6. Dolna granica oznaczalności	78
2.3.7. Wydajność ekstrakcji – odzysk	78
2.3.8. Stabilność	80
2.3.8.1. Test zamrażania i rozmrażania	80
2.3.9. Próby kontroli jakości	82
3. Metodyka obliczeń farmakokinetycznych	84
4. Metody statystyczne	87
5. Wyniki	87
5.1. Wpływ godziny podania na farmakokinetykę propofolu u królików	87
5.2. Interakcje propofolu z wybranymi lekami miejscowo znieczulającymi	88
5.2.1. Wpływ propofolu na farmakokinetykę lidokainy	88

5.2.2. Wpływ propofolu na farmakokinetykę bupiwakainy i jej metabolitu PPX	88
<b>IV. Ryciny</b>	89
<b>V. Tabele i wykresy</b>	98
<b>VI. Dyskusja</b>	155
<b>VII. Wnioski</b>	166
<b>VIII. Streszczenie</b>	167
<b>IX. Summary</b>	169
<b>X. Piśmiennictwo</b>	171

## Zastosowane skróty

AUC – pole powierzchni pod krzywą stężenie – czas

AUMC – pole powierzchni pod pierwszym momentem krzywej

ATC – klasyfikacja anatomiczno – terapeutyczno – chemiczna

$\beta$  – stała szybkości fazy eliminacji

Cl – klirens leku

CV% – współczynnik zmienności

GABA – kwas gamma – aminomasłowy

GX – glicyloksylidyna

IS – istotne statystycznie

K – stała szybkości procesu farmakokinetycznego

$K_{el}$  – stała eliminacji

LD50 – (*lethal dose*) dawka powodująca śmiertelność 50% badanych zwierząt

LOD – (*limit of detection*) granica detekcji

LLOQ – (*lower limit of quantitation*) dolna granica oznaczalności

LPA – (*lysophosphatic acid*) kwas lizofosfatydowy

MEGX – monoetyloglicyloksylidyna

m.c. – masa ciała

PAF – (*platelet activating factor*) czynnik aktywujący płytki

PPX – pipekoliksylidyna

PRIS – (*propofol infusion syndrome*) poinfuzyjny syndrom propofolowy

QC – (*quality control*) próby kontrolne

RHT – (*retino-hypothalamic tract*) szlak siatkówkowo - podwzgórzowy

SCN – (*suprachiasmatic nuclei*) jądra nadskrzyżowaniowe

TIVA – znieczulenie całkowicie dożylne

TCI – infuzja kontrolowana docelowym stężeniem anestetyku

UGT – UDP-glukonylotransferaza

Propofol (2,6 – diizopropylofenol; *Diprivan*®) został wprowadzony do światowego lecznictwa w 1986 roku, a w 1989 roku trafił na rynek farmaceutyczny Ameryki Północnej jako środek hipnotyczny zastępujący tiopental (*Pentothal*®) i metoheksytal (*Brevital*®).<sup>1</sup> Od tego czasu wiele badań potwierdziło bezpieczeństwo, skuteczność oraz szereg dodatkowych działań propofolu, z których szczególnie korzystne jest działanie przeciwwymiotne.<sup>2</sup> Szybki początek działania, krótki czas wybudzania, niewielka częstotliwość pojawiania się działań niepożądanych spowodowały, że lek jest obecnie bardzo szeroko wykorzystywany w anestezjologii.<sup>3,4</sup>

Rosnące zainteresowanie chronobiologią i wpływem okołodobowych rytmów na działanie leków przyczyniło się do poszukiwań zależności między anestezją a czasem jej stosowania. Wyjątkowo istotne znaczenie ma to dla leków podawanych przez dłuższy czas, np. propofolu stosowanego w długotrwałej sedacji pacjentów na oddziałach intensywnej terapii oraz pacjentów leczonych paliatywnie. Znajomość zasad chronobiologii oraz umiejętność ich zastosowania w praktyce klinicznej otwiera nowe perspektywy racjonalizacji farmakoterapii. Możliwość modyfikacji dawki anestetyku w zależności od pory jego podania stwarza szanse na zwiększenie skuteczności leczenia przy jednoczesnym zwiększaniu jego bezpieczeństwa i minimalizowaniu ryzyka działań niepożądanych.

Badania wskazują, iż efekt znieczulenia oraz toksyczność anestetyków mogą zależeć od pory ich podania. Jednak informacje dotyczące chronobiologicznego aspektu stosowania anestetyków ogólnych nadal pozostają fragmentaryczne. W badaniach z udziałem zwierząt zaobserwowano wpływ pory zastosowania propofolu na czas jego działania. Wykazano też możliwość występowania chronobiotycznego efektu hipnozy propofolowej – lek podany w momencie przechodzenia z fazy spoczynku do fazy aktywności u zwierząt powodował przesunięcie rytmu wewnętrznego zegara biologicznego o jedną godzinę.<sup>5</sup>

Nowoczesna anestezja wymaga często zastosowania kilku leków jednocześnie w celu zapewnienia wszystkich komponentów znieczulenia. Stwarza to ryzyko wystąpienia interakcji międzylekowych, mających duże znaczenie w praktyce klinicznej. Do najczęstszych należą interakcje na etapie metabolizmu, w których biorą udział leki będące inhibitorami lub induktorami enzymatycznymi.

Propofol metabolizowany jest w wątrobie przy udziale licznych izoform cytochromu P450: CYP1A2, CYP3A4, CYP2C9, CYP2A6, CYP2C8, CYP2C18 oraz CYP2C19.<sup>6,7</sup>

Lek ten jest znany jako potencjalny inhibitor enzymów CYP3A4 oraz CYP1A2 i jako taki, może hamować ich aktywność obniżając tempo metabolizmu substratów dla CYP3A4 i CYP 1A2.<sup>8,9</sup>

Szlak przemian propofolu pokrywa się ze szlakami metabolicznymi innych leków, np. miejscowo znieczulających – z lidokainą na poziomie izoform CYP1A2 i CYP3A4 oraz z bupiwakainą, z którą dzieli przemiany pod wpływem CYP3A4 oraz prawdopodobnie 2C19.<sup>10,11</sup>

Dane literaturowe nie wskazują jednoznacznie jakie wzajemne oddziaływania istnieją między propofolem a amidowymi anestetykami lokalnymi. Badania *in vitro* wskazują na hamujący efekt propofolu na metabolizm lidokainy natomiast w badaniach wpływu propofolu na metabolizm lidokainy podanej zewnątrzoponowo (*in vivo*) nie zaobserwowano takich zmian.<sup>10,12</sup> Wiele badań potwierdziło również możliwość nasilenia hipnotycznego działania propofolu u pacjentów, u których zastosowano wcześniej regionalną anestezję bupiwakainą lub lidokainą, jednak mechanizm tej interakcji nie został do końca wyjaśniony.<sup>13,14</sup>

Celem niniejszych badań była ocena wpływu rytmów okołodobowych na parametry farmakokinetyczne propofolu u królików.

Dodatkowym aspektem badawczym było określenie wpływu propofolu na metabolizm leków miejscowo znieczulających – lidokainy i bupiwakainy z wykorzystaniem modelu zwierzęcego.

## 1. CHRONOBIOLOGIA

### 1.1. Podstawowe pojęcia chronobiologii

Chronobiologia jest obszarem wiedzy medycznej analizującym rytmiczność procesów biologicznych. Bada rytmy biologiczne, które odpowiadają za organizację rytmów czasowych funkcjonowania żywych organizmów.<sup>15</sup> Opisuje zmiany zjawisk w czasie i mechanizmy nimi rządzące.<sup>16,17</sup> Chronobiologia może być podzielona na bardziej szczegółowe dziedziny, z których chronofarmakologia, chronofarmakokinetyka i chronoterapia są najbardziej interesujące z terapeutycznego punktu widzenia. Chronofarmakologia bada w jaki sposób rytmy biologiczne wpływają na farmakokinetykę i farmakodynamikę stosowanych leków.<sup>17</sup> Jest nauką ujmującą zależności między porą podania leku a jego działaniem. Wpływ na tę zależność mają przede wszystkim chronestezja czyli zmienność wrażliwości na leki w zależności od pory dnia oraz chronokinetyka czyli rytmika procesów wpływających na biodostępność i biotransformację leków.<sup>15</sup>

Chronofarmakokinetyka opisuje zależność dyspozycji leku w organizmie od rytmów biologicznych.<sup>18</sup> Z kolei chronoterapia poszukuje odpowiedzi na pytanie, kiedy ma miejsce najodpowiedniejszy moment dostarczania leku do organizmu w celu dopasowania leczenia do rytmów biologicznych, m.in. do rytmiki objawów chorobowych, mechanizmów choroby lub w celu zminimalizowania efektów ubocznych.<sup>17</sup>

Dobowe zmiany w sile działania leków określane są natomiast pojęciem chronergii.<sup>15</sup>

#### 1.1.1. Rytmy biologiczne

Rytmy biologiczne zwane również biorytmami są to powtarzalne procesy fizjologiczne i biochemiczne organizmów żywych jedno- i wielokomórkowych ze świata roślinnego i zwierzęcego.

Rytm biologiczny, czyli powtarzalność procesów fizjologicznych w czasie odbywa się w określonych cyklach, najczęściej mamy do czynienia z cyklem cirkadialnym trwającym 20-28 godzin (średnio 24 godziny), jednak można wyróżnić

również cykle wynoszące ułamki sekund, a także cykle miesięczne lub nawet roczne (tab.1.). Z punktu widzenia farmakoterapii najbardziej interesującym jest „rytm okołodobowy”, w którym w obrębie jednego cyklu zmian możemy zaobserwować między innymi rytm snu-czuwania, zmian temperatury ciała, rytm wydzielania wewnętrznego, rytmikę szybkości pracy serca i zmian ciśnienia krwi.<sup>15, 19</sup>

Tabela 1

## Rytmy biologiczne

RYTMY BIOLOGICZNE				
Nazwa rytmu		Częstotliwość	Średnia częstotliwość	
<i>Ultradian</i>	Ultradobowy	Poniżej 20 h		
<i>Circadian</i>	Okołodobowy	20-28 h	24 h	
<i>Infradian</i>	Infradialne	Powyżej 28 h		
		▪ Tygodniowy ( <i>circaseptan</i> )	4-10 dni	7 dni
		▪ 14-dniowy ( <i>circadiseptan</i> )	11-17 dni	14 dni
		▪ 20-dniowy ( <i>circavigintan</i> )	17-23 dni	20 dni
		▪ Menstrualny ( <i>circatrigintan</i> )	25-35 dni	30 dni
	▪ Roczny ( <i>circannual</i> )	10-14 miesiące	12 miesięcy	

Źródło: Grabowski T.: Farmakokinetyka i Biofarmacja, [www.biokinetica.pl](http://www.biokinetica.pl), Warszawa 2010; 1-507, data wejścia 13.01.2012r.<sup>18</sup>

### 1.1.2. Zegar biologiczny

Chronobiologia jest obszarem wiedzy posługującym się specyficznym językiem i pojęciami jak np. oscylator czy dawca czasu. Zegar biologiczny, zwany w chronobiologii również oscylatorem, generuje rytmy biologiczne odmierzając czas wewnątrz organizmu. U ssaków za wewnętrzny zegar biologiczny uważane są jądra nadskrzyżowaniowe położone w przedniej części podwzgórza, tuż nad skrzyżowaniem nerwów wzrokowych po obu stronach trzeciej komory (SCN, *suprachiasmatic nuclei*).<sup>21,22</sup> Kluczową rolę SCN potwierdziły badania przeprowadzone na gryzoniach, w których najpierw niszczone SCN, co prowadziło do utraty rytmów okołodobowych u badanych zwierząt, a następnie przeszczepiano tę strukturę i obserwowano pojawienie



się rytmu okołodobowego reprezentującego dawcę a nie biorcę. Wskazuje to również, że działanie oscylatora ma podłoże zaprogramowane genetycznie.<sup>21</sup> Głównymi środowiskowymi sygnałami wejściowymi w strukturze zegara biologicznego tj. „dawcami czasu” lub inaczej „synchronizatorami” (*zeitgeber*) są światło i ciemność czyli cykl dzień-noc.

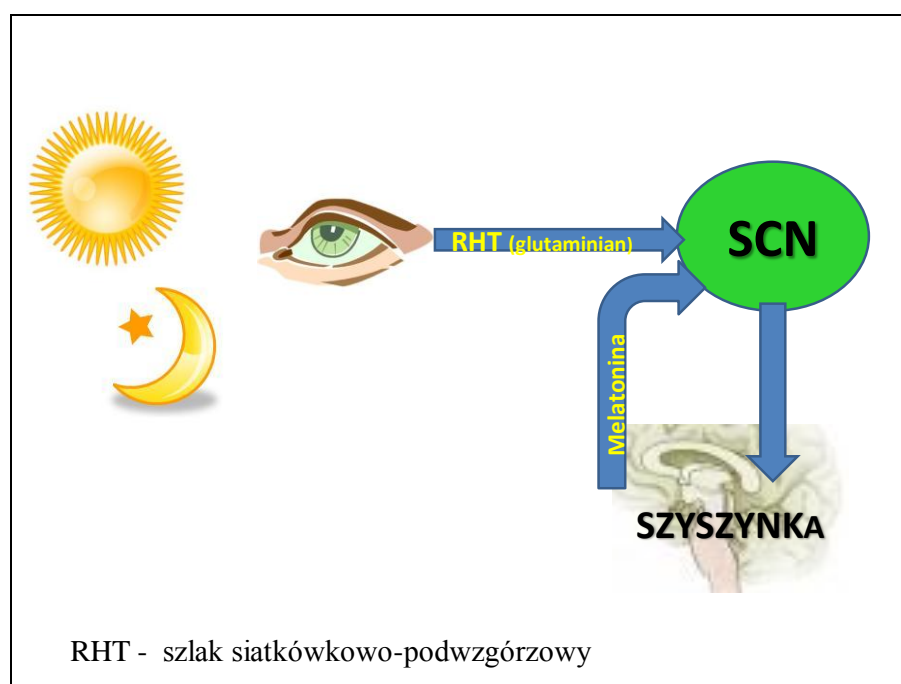
Najważniejszym narządem dróg aferentnych jest siatkówka oka, będąca jedynym u ssaków narządem przystosowanym do odbioru kwantów światła. Wyspecjalizowane komórki oka – fotoreceptorowe (pręciki i czopki) oraz komórki zwojowe, odbierają informację świetlną i następnie przekształcają ją w sygnał neurochemiczny przesyłany do SCN szlakiem siatkówkowo-podwzgórzowym, za pomocą neurotransmitera – kwasu glutaminowego.<sup>19,21,22</sup> Sygnał wytwarzany rytmicznie przez oscylator (SCN) jest przekazywany do struktur efektorowych. Powstały sygnał jest przekładany na rytmiczne zmiany np. w ekspresji genów, zmiany w stężeniu hormonów czy pracy serca. Najbardziej znaną strukturą efektorową jest szyszynka, która w sposób rytmiczny wytwarza melatoninę.<sup>23, 24</sup>

Model zegara biologicznego możemy zatem przedstawić schematem:

wejście (*input*) → oscylator (*pacemaker*) → wyjście (*output*)

Rycina 1

Schemat organizacji zegara biologicznego u człowieka



### 1.1.3. Chronobiotyki

Poza światłem, istnieją również inne czynniki zewnętrzne wpływające na biologiczne rytmy człowieka. Czynniki takimi mogą być m.in. leki. Substancje, które mogą wywołać zmiany w strukturze czasowej zegara biologicznego określane są pojęciem chronobiotyku. Takie właściwości substancji leczniczych zostały zaobserwowane już wiele lat temu, a termin chronobiotyki użyty był po raz pierwszy przez Simpsona już w 1973 roku.<sup>25</sup> Chronobiotyczne właściwości zdają się mieć anestetyki, w odniesieniu do których powstało nawet pojęcie długu czasowego anestezji (*ang. jet-lag anesthesia*).<sup>5,26,27</sup> Naukowcy francuscy wskazali, że znieczulenie propofolem może wpływać na zegar biologiczny w podobny sposób jak podróże międzykontynentalne.<sup>5</sup>

## 1.2. Chronofarmakologia

Chronofarmakologia bada zmiany działania leków w zależności od pory ich podania. Zależność ta jest uwarunkowana głównie przez chronestezję czyli dobową zmienność wrażliwości receptorów na leki i chronokinetykę – dobową zmienność w zakresie biodostępności i biotransformacji leków. Chronofarmakologia umożliwia opracowanie najbardziej efektywnych schematów stosowania leków, dopasowując godziny ich podania do naturalnych rytmów organizmu, a także rytmów obserwowanych w patofizjologii wielu chorób.<sup>15,21</sup>

### 1.2.1. Chronofarmakokinetyka

Jednym z podstawowych paradygmatów farmakologii klinicznej jest niezmiennosc parametrów farmakokinetycznych w ciągu doby.<sup>28</sup> Jednak przeprowadzone dotychczas badania wskazują istnienie w wielu ważnych grupach leków co najmniej kilku przykładów wykazujących zależność kinetyki od rytmów biologicznych.<sup>18</sup> Większość funkcji organizmu wykazuje znaczące zmiany w ciągu doby, wśród nich także kluczowe parametry fizjologiczne wpływające na farmakokinetykę leków: rytm serca, temperatura ciała, ciśnienie krwi, stężenie

hormonów, dynamika wydzielania soku żołądkowego, perystaltyka przewodu pokarmowego, aktywność fibrynolityczna. Również w funkcji płuc (zmiany objętości minutowej), wątroby (metabolizm, wątrobowy przepływ krwi) i nerek (filtracja kłębuszkowa) zaobserwowano zależne od pory dnia zmiany.<sup>18,28</sup> Poza dobrze poznanymi rytmami fizjologicznymi jak np. rytm wydzielania wewnętrznego kortyzolu, który najwyższe stężenia osiąga nad ranem, zauważono także rytmikę w zdarzeniach patologicznych, jak np. zawały mięśnia sercowego, których największa częstotliwość przypada na godziny poranne.<sup>15,23</sup>

Przyczyną występowania zmian w dyspozycji leków w czasie są zmiany parametrów fizjologicznych. Kluczowymi parametrami, których zmienność obserwujemy w ciągu doby, a które mają wpływ na farmakokinetykę leków są:

- ciśnienie krwi – typowy obraz dobowego rytmu ciśnienia to jego nocny spadek, wzrost w godzinach porannych i obniżanie w godzinach wieczornych,
- perfuzja narządów i tkanek – większa w godzinach aktywności niż spoczynku, co może wywoływać zmiany w charakterze zjawisk redystrybucji leku z krwi do tkanek i z tkanek do krwi, wiązania leku z białkami i poziomu frakcji wolnej leku,
- wydzielanie soku żołądkowego – maksimum czynności wydzielniczej przypada na godziny wieczorne, utrzymując się do połowy nocy i znacznie zmniejszając się w godzinach porannych,
- szybkość opróżniania żołądka – opróżnianie żołądka szybsze o ponad 50% rano niż wieczorem,
- aktywność metaboliczna wątroby – największa aktywność występuje we wczesnych godzinach popołudniowych, co może powodować szczególnie niskie stężenia leków wykazujących wysoki efekt pierwszego przejścia przez wątrobę w tych godzinach,
- wchłanianie jelitowe – biodostępność leków podanych doustnie jest większa podczas dnia niż w godzinach wieczornych, dla leków wchłanianych na drodze dyfuzji biernej jest ona o 20-30% mniejsza wieczorem niż w godzinach przedpołudniowych,
- wydalanie i pH moczu – maksimum wydalania moczu przypada na godziny popołudniowe, wtedy też obserwujemy wzrost jego pH, w nocy pH moczu spada,

- temperatura ciała – najwyższa wartość temperatury ciała przypada ok. godz. 22:00, natomiast najniższe wartości występują w godzinach porannych oraz w nocy,
- objętość wydychanego powietrza – najmniejsza w porze nocnej, spowodowana zmniejszaniem pojemności życiowej płuc o tej porze,
- zmiany poziomu hormonów – np. kortyzol – najwyższe stężenia osiąga rano, wieczorem natomiast najniższe, melatonina – osiąga maksymalne stężenia w godzinach nocnych, które stopniowo spadają do godzin porannych utrzymując się na niskim poziomie aż do wieczora.<sup>15, 18, 21, 29</sup>

### 1.2.2. Chronofarmakodynamika

Chronofarmakodynamika jest częścią chronofarmakologii zajmującą się badaniem efektu farmakologicznego ksenobiotyku w aspekcie czasu jego zastosowania.

Na chronofarmakodynamikę składają się:

- *Chronostezja* – dobową zmienność wrażliwości receptorów powodowana okresowymi zmianami w ich strukturze i strukturze błon komórkowych.<sup>15, 18</sup>
- *Chronergia* – dobową zmienność w sile działania leków będącą wynikiem chronostezji i chronofarmakokinetyki.<sup>15, 18</sup>
- *Chronotolerancja* – zależna od rytmu dobowego tolerancja organizmu na leki, wynikająca ze zmiany wrażliwości receptorów i parametrów farmakokinetycznych.<sup>15, 18</sup>

### 1.2.3. Chronoterapia

Chronofarmakologia zakłada nie tylko leczenie odpowiednią substancją w odpowiedniej dawce, ale także w odpowiednim czasie. Chronoterapia znajduje zastosowanie w leczeniu astmy, wrzodów żołądka, nadciśnienia i innych chorób wykazujących dobową rytmikę.

Periodyczność w występowaniu napadów astmy jest dobrze znana. Płuca są bardziej wrażliwe na działanie substancji kurczących, jak np. histaminy czy acetylocholinę w godzinach nocnych niż w dzień. Z tego powodu jedną z lepiej zbadanych grup leków pod kątem chronobiologicznym są leki stosowane w terapii

astmy. Zbadano chronofarmakokinetykę teofiliny i zaobserwowano zmiany dobowe w wartościach takich parametrów jak  $C_{max}$  i  $t_{max}$ , które odpowiednio były niższe i dłuższe po wieczornym niż po porannym podaniu. Przekłada się to na praktyczne zastosowanie teofiliny, która może być podawana w większych dawkach w godzinach nocnych, w celu zrównoważenia nocnego spadku funkcji płuc. Również  $\beta$ -sympatykomimetyki podawane w godzinach wieczornych dają lepsze efekty terapeutyczne.<sup>28</sup>

Dobrze znaną zależnością chronobiologiczną jest także rytmika sekrecji gastrycznej u ludzi, dlatego H<sub>2</sub> blokery, które hamują wydzielanie kwasu żołądkowego powinny być stosowane w późnych godzinach popołudniowych lub wczesno – nocnych, w których to porach obserwuje się fizjologiczne nasilenie wydzielanie kwasu żołądkowego.<sup>28</sup>

Wartości ciśnienia krwi wykazują fizjologiczną zmienność okołodobową. U zdrowych osób obserwuje się poranny wzrost ciśnienia tętniczego, następnie obniżanie się ciśnienia w godzinach wieczornych i jego nocny spadek. Brak fizjologicznego spadku ciśnienia krwi w nocy jest często związany z wtórnym nadciśnieniem tętniczym i zwiększonym ryzykiem zdarzeń sercowo – naczyniowych oraz powikłań narządowych. Duże znaczenie kliniczne ma także zaobserwowana cykliczność powikłań nadciśnienia, takich jak: epizody duszniczy bolesnej, zawały serca, zmiany niedokrwienne, nagła śmierć sercowa czy pęknięcia tętniaka aorty ze szczytami w godzinach porannych. Z dotychczasowych badań wynika, że po wieczornym podaniu inhibitorów konwertazy angiotensyny lub antagonistów wapnia obserwuje się nie tylko spadek ciśnienia, ale także poprawę stosunku ciśnień dzień/noc, co może przynieść duże korzyści terapeutyczne dla chorych z zaburzeniami dobowego profilu ciśnienia krwi.<sup>21</sup> Farmakokinetyka leków stosowanych w terapii nadciśnienia tętniczego zmienia się w ciągu doby: propranolol, doustne nitraty oraz blokery kanału wapniowego wykazują wyższe stężenia  $C_{max}$  i krótszy czas  $t_{max}$  po podaniu rano niż wieczorem.<sup>28</sup>

Rytmiczne zmiany w ludzkim organizmie mogą zostać wykorzystane także w terapiach przeciwnowotworowych. Najlepsze efekty leczenia można uzyskać stosując farmakoterapię dopasowaną do rytmu podziałów komórkowych, nasilających się w nocy.<sup>30</sup> Zaobserwowano znaczne różnice w toksyczności jak i efektywności leczenia w zależności od pory zastosowania leku.<sup>31</sup>

Obecny stan wiedzy wspomaga także leczenie bólu zgodnie z rytmami biologicznymi. Ból różnego pochodzenia często nasila się w określonych porach dnia.

Dobrze znanym jest schemat porannego nasilenia bólu u pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów, podczas, gdy np. ból nowotworowy osiąga szczyt w okolicach godziny 18:00. Już w roku 1814 Virey zaobserwował, że podawana wieczorem nalewka z opium (laudanum), była najskuteczniejsza. Badania prowadzone od lat osiemdziesiątych udowodniły istnienie zmian w farmakokinetyce i skuteczności znoszenia bólu w zależności od pory podania leków przeciwbólowych. Biodostępność ketoprofenu i indometacyny okazała się o 50% wyższa po podaniu o 7 rano w porównaniu do aplikacji wieczornej. Badania na zwierzętach potwierdziły występowanie dobowej rytmiki w efektywności i toksyczności niesteroidowych leków przeciwzapalnych, np. aspiryna podawana w tych samych dawkach, powodowała najwyższą śmiertelność w końcowej fazie spoczynku szczurów.<sup>32</sup>

### **1.3. Chronobiologia w anestezji**

Stały postęp w anestezjologii zapewnia obecnie pacjentom maksimum bezpieczeństwa terapeutycznego podczas zabiegu, tak więc coraz większy nacisk kładziony jest na eliminowanie niepożądanych działań po znieczuleniu. Wiadomo, że wielu pacjentów narzeka na zaburzenia snu i zmęczenie nawet kilka dni po zastosowaniu u nich znieczulenia. Takie symptomy pojawiają się nawet po krótkotrwałym znieczuleniu (20-30 min.) nie połączonym z procedurami chirurgicznymi (np. po kolonoskopii). Badania przeprowadzone przez Challeta wykazały, że anestetyki mogą zakłócać rytm dobowy, powodując desynchronizację zegara wewnętrznego i dawać efekt u ludzi podobny do efektu podróży między strefami czasowymi, porównywalny do lotu Paryż – Nowy Jork.<sup>5,33</sup> Z drugiej strony udowodniono również wpływ zegara biologicznego na znieczulenie – jego czas i siłę działania oraz toksyczność.<sup>16</sup>

#### **1.3.1. Anestetyki lokalne**

Prowadzono dotąd wiele badań u ludzi jak i z wykorzystaniem zwierzęcego modelu doświadczalnego w celu określenia dobowych zmienności w toksyczności, farmakokinetyce i farmakodynamice anestetyków lokalnych. Większość z nich dotyczyła amidowych pochodnych ksylidyny i wykazywała zależność między

wielkością dawki toksycznej a godziną podania. Dobowa zależność była obserwowana w występowaniu drgawek wywołanych pojedynczą dawką lidokainy u myszy (65mg/kg m.c. dootrzewnowo), największy procent drgawek występował u zwierząt o godz. 21:00 (83%) czyli w początkowej fazie aktywności zwierząt.<sup>16</sup>

Podobną dobową zależność obserwowano u gryzoni w przypadku oznaczeń ostrej toksyczności bupiwakainy, etidokainy, mepiwakainy i lidokainy. Najniższe stężenia (w mg/kg) bupiwakainy i mepiwakainy powodujące 50% śmiertelności tych gryzoni (LD<sub>50</sub>) odnotowano o godzinie 22:00 i 19:00, a więc najwyższą śmiertelność zaobserwowano pod koniec fazy spoczynku.<sup>34</sup> Wyniki te wskazują na możliwość występowania najwyższej toksyczności lokalnych anestetyków u ludzi w fazie aktywności.<sup>32</sup>

W badaniach na myszach zaobserwowano największą częstość występowania efektów toksycznych stosowania lokalnych anestetyków podczas fazy ciemnej (faza aktywności myszy), najniższe natomiast w fazie jasnej (faza spoczynku myszy).<sup>16</sup>

Badania prowadzone z udziałem ludzi wskazują na możliwość uzyskania najdłuższej anestezji przy użyciu lidokainy i betoksykainy podanej o godzinie 15:00 (taką samą zależność zaobserwowano dla mepiwakainy stosowanej do zabiegów stomatologicznych). W licznych badaniach zaobserwowano generalną zależność, wskazującą na osiąganie najdłuższego efektu znieczulającego po zastosowaniu lokalnych anestetyków o godzinie 15:00. Chronobiologiczny aspekt znieczulenia zewnątrzoponowego prowadzonego za pomocą ropiwakainy badano na grupie 194 kobiet podczas porodu. Dłuższą analgezyę osiągnięto po zastosowaniu ropiwakainy w ciągu dnia niż po zastosowaniu jej w ciągu nocy.<sup>35</sup> Długość działania stosowanej zewnątrzoponowo ropiwakainy podczas porodu może być dłuższa nawet o 28% przy zastosowaniu w dzień w porównaniu do wieczornego czy nocnego podania. Podobnie długość efektu działania fentanylu podanego podpajęczynówkowo była dłuższa w dzień niż w nocy.<sup>16, 35, 36</sup>

Zmiany w sile i długości działania anestetyków lokalnych mogą wynikać z dobowych zmian farmakokinetyki leków miejscowo znieczulających. U ludzi w zależności od pory podania lidokainy obserwuje się istotną różnicę dla wartości AUC, które są największe o godzinie 15:30 w porównaniu do AUC o godzinach: 09:30, 12:30 i 18:30. Dla bupiwakainy podawanej w 36 godzinnym wlewie ciągłym obserwowano zmiany w klirensie, który maksymalne wartości przyjmował o godzinie 06:30.<sup>16</sup>

Także stężenia lidokainy stosowanej przezskórnie były ocenione o różnych porach dnia i otrzymano znacznie wyższe ich wartości o godzinie 16:30 niż o 07:30 (44%).<sup>32, 37</sup> Okołodobowe zmiany w kinetyce, długości działania i toksyczności leków mogą być tłumaczone zmiennością przepuszczalności błon biologicznych oraz zmianami w wiązaniu z białkami oraz dystrybucji. Zbadano szybkość przenikania wybranych anestetyków do erytrocytów wykazując istnienie dobowej zmienności w przepuszczalności błon erytrocytów niezależnie od stosowanych stężeń lidokainy, bupiwakainy, mepiwakainy i etidokainy. Czasowe zmiany efektywności wiązania z białkami zaobserwowano dla lidokainy, bupiwakainy, etidokainy i mepiwakainy. Metabolizm leków miejscowo znieczulających zależy w dużej mierze od przepływu wątrobowego (wysoki współczynnik ekstrakcji wątrobowej), a zmiany tego przepływu (najwyższy w godzinach wczesnopopołudniowych) mogą tłumaczyć również zmiany wartości klirensu tych leków.<sup>16</sup>

### 1.3.2. Anestetyki działające ogólnie

Wiadomo, że anestetyki wziewne działając na centralny układ nerwowy – głównie mózg – wywołują efekty znieczulenia. Pomimo ich szerokiego stosowania już od około 150 lat, nie jest wyjaśniony do końca ich mechanizm działania na poziomie molekularnym. Ostatnie lata przyniosły nowe możliwości badania zmian na poziomie ekspresji genów. Możliwym stało się więc wyjaśnienie czy znieczulenie ogólne ma wpływ na ekspresję genów. Wykryto cztery geny zwane genami cirkadialnymi, których ekspresja spada po zastosowaniu anestezji (*ARC*, *Egr1*, *Krox20*, *NGFI-B*). Sewofluran w badaniu na szczurach, hamował ekspresję cirkadialnych genów *Per2*, *Dbp*, *Arc*, *Egr1*, *Krox20* i *NGFI-B* w mózgu.<sup>38</sup> Istnieją doniesienia o wpływie anestezji na rytmy dobowe, jednak wyniki tych badań pozostają kontrowersyjne.<sup>16</sup> Jeśli sewofluran wpływa na ekspresję genów w jądrach nadskrzyżowaniowych, może to wyjaśniać zmiany w rytmach biologicznych pacjentów poddawanych znieczuleniu, jednak wymaga to dalszych badań, gdyż w przytoczonych powyżej wynikach doświadczeń, badano cały mózg, a nie tylko struktury zegara biologicznego.<sup>38</sup> Także inne badanie dotyczące hamującego wpływu propofolu, na produkcję genów cirkadialnych w mózgu, potwierdziło wcześniejsze założenie. Propofol zmienił ekspresję genów, która utrzymywała się do 24 godzin po zastosowanym znieczuleniu.<sup>39</sup>



W literaturze opisano dotąd niewiele badań określających zmiany w toksyczności czy sile działania anestetyków w zależności od pory podania u ludzi. Wiele natomiast badań potwierdziło najsilniejsze hipnotyczne działanie anestetyków ogólnych w fazie odpoczynku u zwierząt, co u człowieka stanowiłoby godziny nocne.

W jednym z przeprowadzonych eksperymentów wykazano największą efektywność hipnotyczną halotanu między godziną 24:00 a 06:00. Dla barbituranów zaobserwowano podobną zależność - u myszy i u ludzi najsilniejszy efekt farmakologiczny obserwowano wieczorem.<sup>16</sup>

Dobowa zmienność długości działania propofolu badana była z wykorzystaniem zwierzęcego modelu doświadczalnego – szczurów. Wykazano, że lek ten działa najdłużej, jeżeli podany był zwierzętom w fazie odpoczynku w porównaniu z fazą aktywności.<sup>5</sup> Prawdopodobnie takie zmiany mogą być efektem zmian farmakokinetycznych i farmakodynamicznych, które zostały potwierdzone w eksperymentach z wykorzystaniem innego modelu – królików. Badanie wykazało, że zwierzęta te są mniej podatne na sedację propofolową w czasie aktywności (10:00) niż spoczynku (16:00 i 22:00). Jednocześnie odnotowano najwyższe stężenia propofolu w osoczu i jego wolniejszą eliminację o godzinie 10:00.<sup>40</sup>

W przypadku benzodiazepin, stwierdzono, że diazepam stosowany u myszy wykazuje silniejszy efekt toksyczny w ciągu dnia niż w nocy, natomiast badania farmakokinetyki tego leku potwierdziły, że wolny lek osiąga wyższe od przewidywanych stężenia pomiędzy 23:00 a 08:00 i niższe przed 09:00. Biologiczny okres półtrwania midazolamu również zmienia się w ciągu doby i jest najkrótszy około godziny 14:00 a najdłuższy około godziny 02:00. Mechanizm tych zmian jest prawdopodobnie zależny od wielu czynników. Jednym z nich może być dobową zmienność w ilości i aktywności receptorów benzodiazepinowych, która została zaobserwowana u szczurów i chomików.<sup>41, 42</sup>

Również w badaniach nowych leków miorelaksacyjnych trudno znaleźć eksperymenty dotyczące ich chronofarmakokinetyki czy chronotoksykologii. W badaniu farmakokinetyki pankuronium na szczurach stwierdzono, że wartości AUC było o 27 % mniejsze w nocy. U ludzi poddawanych cholecystektomii stwierdzono natomiast większe zapotrzebowanie na lek o godzinie 09:00 niż o 11:00.<sup>16</sup>

Zmienność w farmakokinetyce i farmakodynamice leków ogólnie znieczulających może wynikać z rytmiki aktywności enzymów wątrobowych, które wykazują najwyższą aktywność w fazie czuwania a najniższą w fazie spoczynku. Wyjaśnienia takiej

zmienności można także szukać w zmienności wrażliwości układu nerwowego w ciągu doby, zmienności ekspresji receptorów czy ich wrażliwości.<sup>5</sup>

### 1.3.3. Zależność rytmiki cirkadialnej od anestezji

Oprócz wpływu wewnętrznego rytmu dobowego na anestezję, badacze postulują także wpływ odwrotny tj. wpływ anestezji na rytmikę cirkadialną.

Zaobserwowano, że anestezja może działać na zegar biologiczny jako „dawca czasu” i powodować jego desynchronizację powodując zmiany w rytmie sen – czuwanie. W badaniu propofolu z wykorzystaniem modelu zwierzęcego (szczury), wykazano jednogodzinne przesunięcie rytmu snu i czuwania jeśli lek podany został rano. Podanie w innych porach dnia nie wywoływało takiego efektu.<sup>5</sup> Podobny wynik przyniosło badanie prowadzone wśród osób po kolonoskopii wykonywanej w znieczuleniu propofolowym.<sup>27</sup> Desynchronizacja zegara biologicznego może także być często przyczyną zaburzeń snu, zmian nastroju czy senności w ciągu dnia występujących u pacjentów po znieczuleniu. Objawy te są identyczne jak u osób zmieniających strefy czasowe, co spowodowało pojawienie się określenia „jet-lag” w stosunku do anestezji czyli wystąpienia długu czasowego u pacjentów po zastosowanym znieczuleniu.<sup>5,26,27</sup>

Anestezja i stres okołoperacyjny wpływają także na zmiany w ilości produkowanej melatoniny

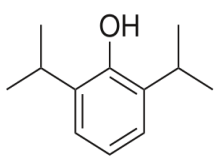
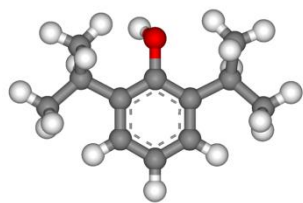
i ekspresji genów zegarowych. Po zastosowaniu np. sewofluranu u szczurów zaobserwowano zmniejszenie ekspresji genów zegarowych.<sup>38</sup> U pacjentów poddawanych znieczuleniu badano także stężenia melatoniny wieczorem i rano w dniu przed znieczuleniem i dzień po. Wykazano większe ilości melatoniny u pacjentów przed zabiegiem niż po. Prawdopodobnie hamowanie syntezy melatoniny spowodowane było pobudzeniem przez anestetyki receptorów GABA A, które przenoszą informacje świetlne do SCN.<sup>26,43</sup> Zmiany w wydzielaniu melatoniny zbadano na modelu zwierzęcym porównując hamujący wpływ kilku anestetyków. Najniższe wartości stężenia melatoniny wykazano u zwierząt znieczulanych halotanem, po zastosowaniu ketaminy poziom melatoniny był wyższy, natomiast po znieczuleniu pentobarbitem nie odnotowano u zwierząt zmian w stężeniu melatoniny.<sup>44</sup>

## 2. PROPOFOL

### 2.1. Budowa i właściwości fizykochemiczne

Tabela 2.

Charakterystyka i właściwości fizykochemiczne propofolu <sup>3, 45, 46, 47</sup>

Charakterystyka i właściwości fizykochemiczne	
Nazwa systematyczna	Propofol
Nazwa chemiczna	2,6-diizopropylfenol
Nazwa handlowa	Abbofol, Dipripol, Diprivan, Plofed, Propofol Fresenius, Propofol-Lipuro, Propofol Pfizer
Wzór strukturalny	 
Wzór sumaryczny	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O
Masa cząsteczkowa	178,27
Gęstość	0,962 g/cm <sup>3</sup>
Temperatura topnienia	18°C
Temperatura wrzenia	265°C
Rozpuszczalność	woda – bardzo słaba, lipidy – bardzo dobra
Postać farmaceutyczna	1% i 2% emulsja do iniekcji typu o/w
pH	7-8,5
pKa	11
Charakter emulsji	Izotoniczny
Kolor emulsji	Biały
Rozpuszczalniki emulsji	5% roztwór glukozy, 5%roztwór dekstrozy
Stabilność	Propofol w postaci emulsji jest stabilny w temp. 4-22°C, nie zamrażać, chronić przed światłem. Przydatny do użycia przez 12 h od otwarcia
Substancje pomocnicze	Glicerol, olej sojowy, lecytyna z jaja kurzego, kwas oleinowy, wodorotlenek sodu do ustalenia pH, woda do wstrzykiwań
Klasyfikacja ATC	N 01 A X 10

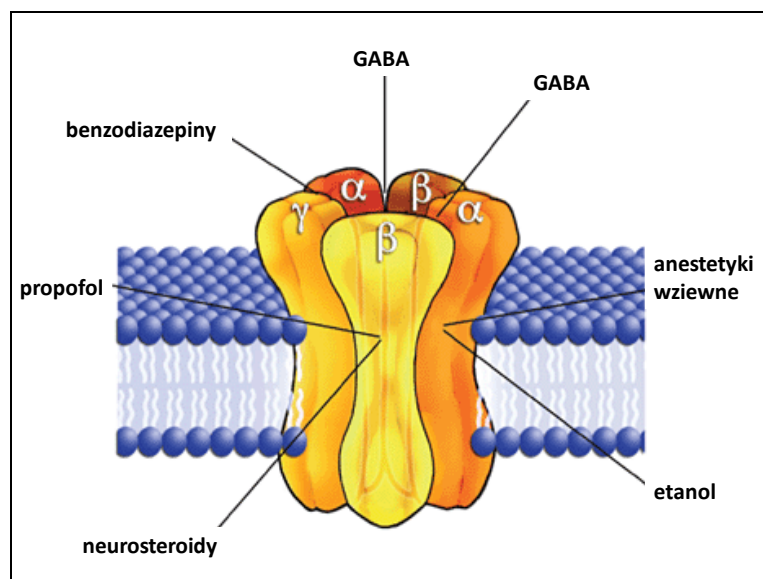
## 2.2. Mechanizm działania

Propofol jest bardzo szeroko stosowanym dożylnym lekiem ogólnie znieczulającym, jednak jego mechanizm działania nie został w pełni wyjaśniony. Wiele badań sugeruje, iż działanie propofolu wynika z nasilenia działania hamujących neurotransmiterów oraz hamowania neurotransmisji pobudzającej, a także wpływu na kanały jonowe.<sup>48</sup>

Obecnie uważa się, że jego efekt anestetyczny wynika przede wszystkim z agonistycznego działania względem receptorów GABA A. Receptor GABA A należy do grupy receptorów bramkowanych ligandem, składających się z pięciu podjednostek tworzących wewnątrz centralny kanał jonowy. Receptory GABA A związane są z kanałem chlorkowym, a ligandem otwierającym ten kanał jest kwas  $\gamma$ -aminomasłowy – jeden z głównych hamujących neurotransmiterów centralnego układu nerwowego. Receptory GABA A składają się z dwóch podjednostek  $\alpha$ , dwóch podjednostek  $\beta$  i jednej  $\gamma$ , wśród których można wyróżnić podtypy:  $\alpha 1$ - $\alpha 6$ ,  $\beta 1$ - $\beta 3$ ,  $\gamma 1$ - $\gamma 3$ . Najliczniejsze receptory GABA znajdujące się w ludzkim mózgu składają się z dwóch podjednostek  $\alpha 1$ , dwóch podjednostek  $\beta 2$  i jednej  $\gamma 2$ . Z kolei każda z tych pojednostek składa się z domeny zewnątrzkomórkowej, znanej jako domena wiążąca ligand (LBD, ligand binding protein) oraz domeny transbłonowej (transmembrane domain (TMD)) składających się z czterech  $\alpha$ -helis (TM1, TM2, TM3, TM4).<sup>49,50,51</sup> W licznych badaniach wykazano, że w odpowiedzi na działanie propofolu mogą brać udział wszystkie typy podjednostek:  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ .<sup>52</sup> Obecnie jednak za główne miejsce działania propofolu na receptor GABA A uważa się podjednostkę  $\beta$ .<sup>53,54</sup>

Podczas aktywacji receptora następuje przepływ jonów chlorkowych, co prowadzi do hiperpolaryzacji błony komórkowej i zahamowania przewodnictwa nerwowego.<sup>63</sup>

Hamujące działanie propofolu na układ nerwowy poprzez receptory GABA A potwierdzają badania Jamesa<sup>50</sup> z jednoczesnym zastosowaniem antagonistów GABA. Wyniki tych badań wykazały potrzebę stosowania znacznie większych dawek propofolu podanego jednocześnie z antagonistą GABA, aby uzyskać ten sam efekt, jak przy stosowaniu samego anestetyku (Picrotoksyna podniosła ED 50 propofolu o 379%).<sup>50</sup>

Schemat budowy receptora GABA<sub>A</sub><sup>55</sup>

Poza wpływem na układ GABA liczne badania potwierdziły wpływ propofolu na inne układy, co może tłumaczyć szereg jego korzystnych działań innych niż znieczulające. Wśród układów, których działanie może być modyfikowane przez propofol wyróżniono układy: kanabinoidowy, NMDA, serotoniny i dopaminergiczny.

Sedatywne oraz antynocyceptywne właściwości propofolu mogą wynikać z jego pośredniego działania na receptory kanabinoidowe CB1, zlokalizowane głównie w centralnym układzie nerwowym. Propofol zwiększa ilość endogennego kanabinoidu – anandamidu poprzez zahamowanie jego katabolizmu. Propofol hamuje kompetytywnie hydrolazę amidów kwasów tłuszczowych (FAAH, ang. fatty acid amide hydrolase), która katalizuje degradację anandamidu, powodując wzrost jego poziomu i pobudzenie receptorów CB 1.<sup>56</sup>

Najnowsze doniesienia literaturowe wskazują na hamujące działanie propofolu na receptory NMDA, co może również częściowo tłumaczyć jego działanie anestetyczne. Receptor NMDA jest tetrameryczną strukturą tworzącą kanał jonowy dla jonów Na<sup>+</sup> i Ca<sup>2+</sup>. Aktywacja receptora następuje pod wpływem przyłączenia glutaminianu i glicyny. Konsekwencją takiego przyłączenia jest napływ jonów do wnętrza komórki, depolaryzacja błony synaptycznej i pojawienie się potencjału czynnościowego. Liczne badania wskazują hamujący wpływ propofolu na receptory

NMDA i jego udział w skomplikowanym mechanizmie powstawania znieczulenia ogólnego.<sup>48, 57, 58</sup>

Propofol działa także na receptory serotoninowe 5-HT<sub>3</sub> biorące udział w mechanizmie powstawania nudności i wymiotów – jednego z najczęstszych działań niepożądanych anestetyków. W badaniu z 2008 roku Barann<sup>59</sup> potwierdził hamujący wpływ propofolu na ludzkie receptory 5-HT<sub>3</sub>. Receptor serotoninowy typu 3 jest bramkowanym ligandem kanałem jonowym, który należy do grupy receptorów wrażliwych na działanie anestetyków. Leki działające antagonistycznie do tego receptora są stosowane w leczeniu jako środki antiemetyczne. Kliniką implikacją takiego działania propofolu może być jego użycie w celu zapobiegania pooperacyjnym nudnościom i wymiotom.<sup>2, 60</sup> Podejrzewa się, że antiemetyczne właściwości propofolu mogą wynikać również z blokowania przez propofol receptora D<sub>2</sub> w rdzeniu przedłużonym.<sup>2</sup>

### 2.3. Farmakokinetyka

Propofol jest drobnocząsteczkowym związkiem aromatycznym o hydrofobowym charakterze. Farmakokinetykę leku po wstrzyknięciu pojedynczej dawki (bolus) lub po zakończeniu wlewu dożylnego opisuje otwarty model trójkompartimentowy z kompartmentami reprezentowanymi przez osocze, tkanki o szybkiej perfuzji oraz tkanki o wolnej perfuzji. Efekty farmakologiczne działania leku można zaobserwować już 30 sekund po jego podaniu dożylnym w bolusie, a jego szczyt przypada na piątą minutę od momentu podania. Jest to wynikiem bardzo szybkiego ustalania się stanu równowagi pomiędzy osoczem a dobrze ukrwioną tkanką mózgową. Następnie obserwuje się szybki spadek stężenia leku we krwi, który jest wynikiem szybkiej redystrybucji leku z mózgu i innych silnie ukrwionych tkanek do tkanek o mniejszej perfuzji – jak np. mięśnie. Szybkość dystrybucji między kompartmentami zmienia się w czasie, aż do ustalenia się równowagi pomiędzy tkankami. W pierwszej fazie charakterystyczna jest bardzo szybka dystrybucja, której okres półtrwania wynosi od 2 do 4 minut ( $t_{1/2\alpha}$ ), następnie zachodzi szybka eliminacja –  $t_{1/2\beta}$  = 30 - 60 minut i wolniejsza faza końcowa, podczas której następuje uwalnianie propofolu ze słabo ukrwionych tkanek  $t_{1/2\gamma}$  = 180-720 minut. Czas działania leku po podaniu dożylniej dawki w bolusie wynosi od 3 do 10 minut. Po zakończeniu podawania propofolu

obserwuje się szybkie wybudzenie pacjenta, które jest efektem właściwości farmakokinetycznych leku. Propofol podawany we wlewie charakteryzuje się dużą objętością dystrybucji w stanie stacjonarnym, co wskazuje na znaczną redystrybucję leku do tkanek słabo ukrwionych jak mięśnie czy tkanka tłuszczowa. Pojemność tych tkanek jest bardzo duża, natomiast szybkość uwalniania z nich leku do kompartmentu centralnego jest mała. W momencie zakończenia wlewu propofolu stężenie leku w kompartmentcie centralnym jest dużo wyższe niż w kompartmentcie peryferyjnym. W efekcie tego stężenie propofolu w tkance mózgowej spada na skutek dwóch mechanizmów – eliminacji leku i redystrybucji. Opisane procesy warunkują szybki spadek stężenia propofolu poniżej wartości potrzebnych do utrzymania hipnozy i szybkie wybudzenie pacjenta. Całkowita eliminacja propofolu z ustroju może trwać wiele godzin a czasem nawet dni. Wynika to ze stopniowego uwalniania leku z tkanek o małej perfuzji, jednak nie zaobserwowano w tej fazie żadnych klinicznych efektów działania propofolu i nie ma to wpływu na wybudzenie pacjenta.<sup>61,62,63,64,65</sup>

Propofol jest rozmieszczany w wielu tkankach organizmu, objętość dystrybucji wynosi 2-10 l/kg i jest szybko wydalany - klirens leku wynosi 23-50 ml/kg/min (1,6-3,4 l/min. dla osoby dorosłej o wadze 70 kg). Wydalanie następuje głównie w wyniku procesów metabolicznych zachodzących w wątrobie - sprzęgania propofolu i chinolu do nieaktywnych metabolitów, które są wydalane przez nerki.<sup>61,62,63,64,65</sup>

Tabela 3.

Podstawowe parametry farmakokinetyczne propofolu \*[61]; \*\*[64]; \*\*\*[65]

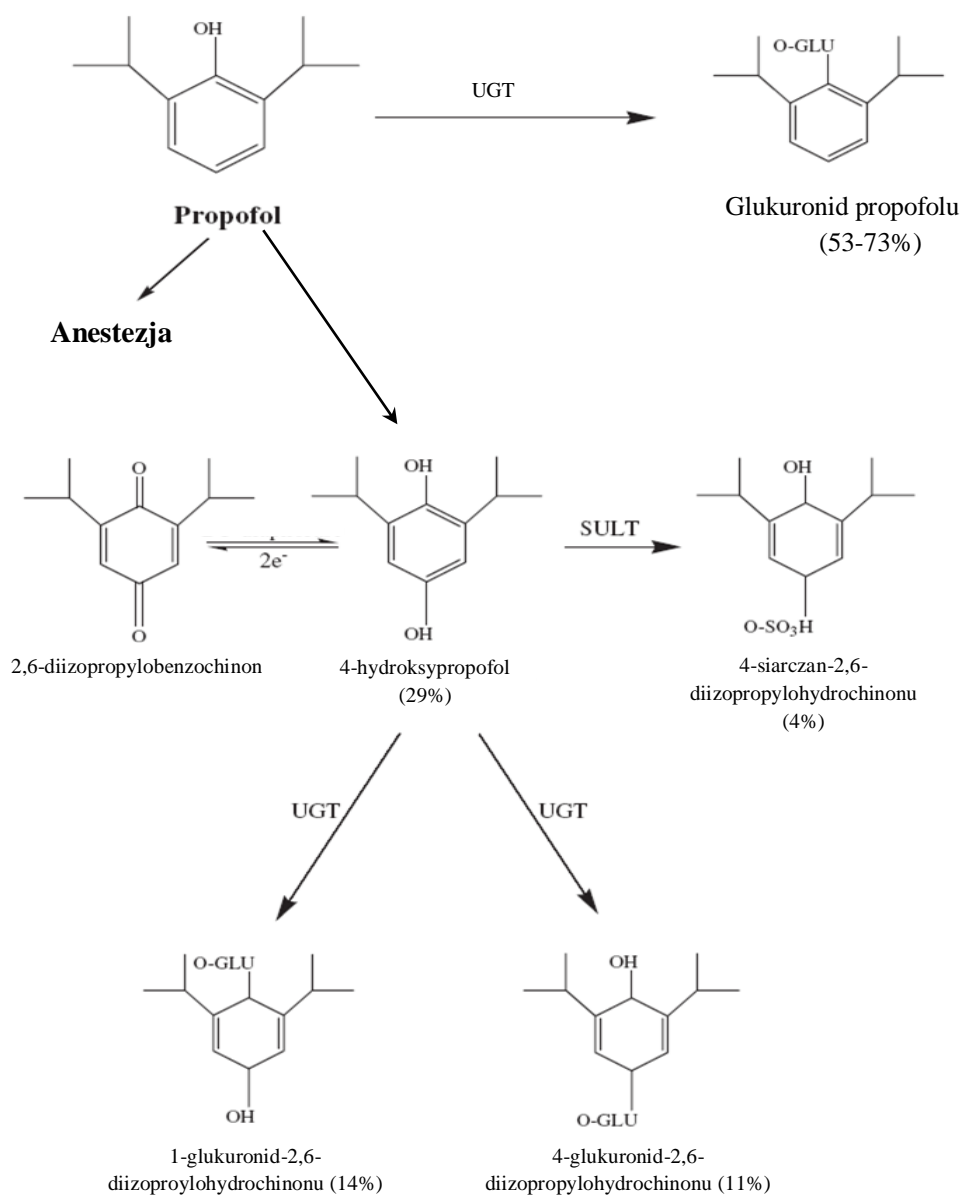
Parametry farmakokinetyczne propofolu	
T $\frac{1}{2} \alpha$	2-4 min*; ***
T $\frac{1}{2} \beta$	30-60 min***
T $\frac{1}{2} \gamma$	3-12 h***; 4-23h*
Wiązanie z białkami	98%*
Objętość dystrybucji w stanie stacjonarnym	2-10 l/kg *
Klirens	20-30 ml/kg/min*; 23-50 ml/kg/min**

Metabolizm propofolu przebiega głównie w wątrobie. Podstawową drogą usuwania propofolu z organizmu jest jego glukuronidacja przy udziale UDP-glukuronylotransferazy. Kwas UDP-glukuronowy jest sprzęgany z grupą hydroksylową propofolu w pozycji C1, w wyniku tej reakcji powstaje hydrofilowy glukuronid propofolu, który może być łatwo usunięty z organizmu. Inną drogą prowadzącą do powstania hydrofilowych metabolitów jest hydroksylacja propofolu w pozycji C4 i utworzenie 4-hydroksypropofolu, który następnie jest sprzęgany z kwasem siarkowym lub glukuronowym i w takiej postaci eliminowany z ustroju.<sup>66</sup>

W procesie wątrobowej biotransformacji propofolu bierze udział wiele izoform cytochromu P450: CYP1A2, CYP3A4, CYP2C9, CYP2A6, CYP2C8, CYP2C18 oraz CYP2C19. Udział tak licznych izoform powinien być korzystny z klinicznego punktu widzenia, gdyż czyni to lek mniej podatnym na interakcje.<sup>6,7</sup>

Trwają badania nad udziałem w metabolizmie propofolu innych narządów niż wątroba, gdyż całkowity klirens leku przewyższa wartości wątrobowego przepływu krwi. Szczególną uwagę zwraca się na nerki, płuca i mózg. Badania na zwierzętach wskazują na eliminację propofolu w tkance płucnej, jednak wyniki badań wśród ludzi nie są jednoznaczne. Na udział nerek i mózgu wskazuje obecność UDP-glukuronylotransferazy w nerkach i mózgu, która jest odpowiedzialna w głównej mierze za metabolizm propofolu. Jednak dotychczas potencjalny udział tych narządów w metabolizmie propofolu nie został jednoznacznie potwierdzony.<sup>67</sup>



Schemat metabolizmu propofolu<sup>68</sup>

UGT – UDP-glukuronylotransferaza; SULT - sulfotransferaza  
W nawiasach podano procentowy udział metabolitów w moczu.

## 2.4. Właściwości farmakologiczne i zastosowanie

Propofol jest krótko działającym dożylnym środkiem znieczulenia ogólnego. Ze względu na korzystne parametry farmakokinetyczne oraz nieliczne działania niepożądane znalazł on szerokie zastosowanie w praktyce klinicznej. Propofol jest

stosowany do wprowadzania i podtrzymywania znieczulenia ogólnego, a także do sedacji pacjentów oddziałów intensywnej terapii oraz osób poddawanych zabiegom diagnostycznym i chirurgicznym.<sup>3, 61</sup>

Propofol stosowany jest w celu wprowadzenia do znieczulenia, jako składnik nasenny znieczulenia całkowicie dożylnego - TIVA (total intravenous anaesthesia), a także w celu sedacji pacjentów przy znieczuleniu miejscowym. Jest lekiem bezpiecznym dla chorych z predyspozycją do hipertermii złośliwej. Obecnie jest najczęściej stosowanym hipnotykiem w technice znieczulenia całkowicie dożylnego. Hipnotyki w TIVA powinny szybko wyłączać świadomość pacjenta, umożliwiać dostosowywanie głębokości znieczulenia do potrzeb zabiegowych, charakteryzować się krótkim czasem działania i możliwością szybkiego wybudzenia pacjenta. Spośród znanych hipnotyków propofol charakteryzuje najlepsza sterowność, co wpływa na jego dużą przydatność w anestezjologii. Ponieważ klinicznie nie zaobserwowano działania przeciwbólowego propofolu, stosuje się go do podtrzymania znieczulenia w połączeniu z opioidami lub ketaminą.<sup>61</sup> System docelowej kontrolowanej infuzji TCI (target-controlled infusion) jest metodą dawkowania anestetyku, która rozwinęła się w ostatnich latach. Wraz z szerokim stosowaniem anestetyków krótko działających metoda TIVA zyskała popularność. Farmakokinetyczne i farmakodynamiczne właściwości propofolu i krótkodziałających syntetycznych opioidów jak remifentanyl czy fentanyl, czynią je odpowiednimi środkami do stosowania w ciągłym wlewie.<sup>69</sup>

Propofol jest stosowany także do sedacji, czyli zmniejszenia reaktywności pacjenta na bodźce zewnętrzne, uspokojenia i zwolnienia procesów umysłowych. Pozwala na zmniejszenie stresu spowodowanego niepokojącymi objawami a u pacjentów leczonych paliatywnie często jest jedyną drogą do zmniejszenia cierpienia chorego. Płynna sedacja pozwala na zachowanie świadomości i możliwość komunikacji z pacjentem, zachowanie odruchów obronnych, drożności dróg oddechowych oraz własnego oddechu pacjenta. Propofol jest często stosowany do sedacji pacjentów przechodzących zabiegi w znieczuleniu regionalnym, podczas bolesnych i długich zabiegów diagnostycznych jak np. kolonoskopii, oraz u pacjentów oddziałów intensywnej terapii i opieki paliatywnej.<sup>62, 70, 71</sup>

U dzieci stosowanie propofolu celem wprowadzenia do znieczulenia ogólnego dopuszczalne jest od 3 roku życia, dla podtrzymania znieczulenia nie zaleca się jego stosowania poniżej 2 miesiąca życia, natomiast do sedacji może być używany dopiero u pacjentów, którzy ukończyli 16 rok życia. Stosowanie leku u osób powyżej 55 roku

życia może być związane z koniecznością zmniejszenia dawki propofolu zarówno podczas wprowadzania do znieczulenia jak i podczas sedacji z zachowaniem świadomości.<sup>46, 62, 64</sup>

Propofol należy do leków stosowanych w ciąży jedynie w razie konieczności (kategoria B). Nie jest wskazany do stosowania w ginekologii i położnictwie podczas zabiegów cesarskiego cięcia, gdyż dane kliniczne na temat jego działań niepożądanych na dziecko nie są jednoznaczne. Część badań nie potwierdziła szkodliwego działania propofolu użytego do indukcji znieczulenia na stan płodu, jednak istnieją również inne doniesienia wskazujące na niższą punktację w skali Apgar u noworodków, których matki znieczulane były propofolem w procedurach cesarskiego cięcia. Lek ten nie jest także wskazany do stosowania u kobiet karmiących, gdyż udowodniono jego przenikanie do mleka, a efekty jego działania na dziecko nie są znane.<sup>61, 64</sup>

Poza powszechnie znanym działaniem hipnotycznym, propofol wykazuje szereg działań plejotropowych. Wiele badań udowodniło działanie przeciwwymiotne leku, wpływ na układ odpornościowy czy działanie antyoksydacyjne. Powszechnie przyjmuje się też, że propofol posiada właściwości anksjolityczne, rozszerzające oskrzela, przeciwświądowe i rozluźniające mięśnie.<sup>2, 65</sup>

Bezpośrednie przeciwwymiotne działanie propofolu jest jego wielką zaletą w porównaniu do innych anestetyków, powodujących często występowanie pooperacyjnych nudności i wymiotów. Jego bezpośrednie działanie przeciwwymiotne zostało po raz pierwszy udokumentowane przez Borgeat'a i wsp.<sup>72</sup> i następnie potwierdzone przez wielu innych badaczy.<sup>73</sup> Mechanizm tego działania nie jest jeszcze w pełni wyjaśniony, jednak uważa się, że jest to spowodowane głównie jego hamującymi właściwościami względem receptorów 5-HT<sub>3</sub> strefy wyzwalającej.<sup>2, 65, 73</sup>

Propofol może też wpływać na produkcję cytokin. Badania wskazują, że jego działanie może prowadzić do aktywacji cytotoksycznych limfocytów T, co wydaje się szczególnie interesującym zagadnieniem od czasu odkrycia ich korzystnej roli w odporności przeciwnowotworowej.<sup>2</sup>

Mimo, iż obecnie uważa się, że propofol nie wykazuje działania analgetycznego, istnieją badania sugerujące możliwość takiego działania. Fakt oddziaływania propofolu na receptory GABA A, a z drugiej strony ich uczestnictwo w mechanizmie przewodzenia bólu w rdzeniu kręgowym może sugerować jego właściwości przeciwbólne. Jednak wyniki badań nad tym zagadnieniem są nadal sprzeczne.<sup>2, 61</sup>

Liczne doświadczenia wskazują na możliwość przeciwdrgawkowego działania propofolu. Udowodniono skuteczność jego działania przeciwdrgawkowego u zwierząt w napadach wywołanych wstrząsami elektrycznymi, bupiwakainą czy innymi lekami. Może to być wynikiem bezpośredniej aktywacji receptora GABA<sub>A</sub> przez propofol.<sup>74</sup>

Budowa chemiczna propofolu, przypominająca strukturę  $\alpha$ -tokoferolu (witaminy E), zachęciła naukowców do poszukiwania działań antyoksydacyjnych leku. Działanie hamujące peroksydacje lipidów i ochrona komórek przed stresem oksydacyjnym przez propofol zostało potwierdzone w badaniach na różnych modelach doświadczalnych.<sup>2</sup> W aspekcie klinicznego zastosowania leku istotnym wydaje się fakt działania ochronnego propofolu w stosunku do uszkodzeń komórek mięśnia sercowego szczurów, wywołanych na drodze mechanizmu niedokrwienie-reperfuzja.<sup>75</sup> Działanie to potwierdził Yuzer i wsp.<sup>76</sup> badając uszkodzenie nerek w mechanizmie niedokrwienia-reperfuzji. Propofol jest więc szczególnie polecany do stosowania w zabiegach z dużym ryzykiem wystąpienia uszkodzeń powodowanych niedokrwieniem i reperfuzją.<sup>76</sup> Także Ansley<sup>77</sup> w swoich badaniach potwierdził korzyści z zastosowania propofolu jako środka kardioprotekcyjnego podczas operacji serca u osób narażonych na podwyższony stres oksydacyjny, np. diabetyków. Propofol chroni komórki przed uszkodzeniem przez nadtlenek wodoru i apoptozą.<sup>77</sup>

Fourcade i wsp.<sup>78</sup> wskazali, że propofol może także działać na układ krzepnięcia krwi. Stosowane rutynowo w praktyce klinicznej dawki propofolu mogą hamować agregację płytek krwi indukowaną przez kwas lizofosfatydowy (LPA, *lysophosphatic acid*), czynnik aktywujący płytki (PAF, *platelet activating factor*) oraz tromboksan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>).<sup>78</sup> Wszystkie wymienione substancje są prozapalnymi lipidowymi mediatorami wytwarzanymi przez aktywowane płytki krwi i prowadzące do ich agregacji.<sup>2</sup>

## 2.5. Działania niepożądane

Propofol jest lekiem szeroko i chętnie stosowanym w praktyce klinicznej, głównie dzięki korzystnemu profilowi farmakokinetycznemu i relatywnej łatwości regulacji jego siły działania. Dodatkowo lek ten stosunkowo rzadko powoduje występowanie ciężkich działań niepożądanych. Najczęstszym jego działaniem niepożądanym jest natomiast ból w miejscu podania leku. Bolesność miejsca wstrzyknięcia propofolu jest obserwowana u 28 – 90 % pacjentów poddawanych

znieczuleniu; nawet małe dawki leku stosowane do sedacji pacjentów powodują ból u 33 – 50 % chorych. Ból ten może być związany z postacią w jakiej propofol jest stosowany tj. emulsji typu olej w wodzie. W celu zmniejszenia dyskomfortu podawania iniekcji leku stosuje się jego połączenie z lidokainą.<sup>63,79</sup>

Formuła preparatów farmaceutycznych propofolu może także generować zakażenia, ze względu na dużą zawartość lipidów w emulsji i tym samym powodować szybki rozwój drobnoustrojów chorobotwórczych w rozpoczętym już opakowaniu leku.<sup>70</sup>

Droga podania propofolu warunkuje również inne działanie niepożądane tj. możliwość występowania zakrzepów i zapaleń naczyń żylnych, jednak występują one rzadko (6,6%).<sup>3,80</sup>

Szczególnie istotne działania niepożądane propofolu dotyczą układu krążenia. Są to obniżenie wartości ciśnienia tętniczego skurczowego i rozkurczowego o odpowiednio 10-15 mmHg oraz 5-15 mmHg, bradykardia oraz przemijający bezdech utrzymujący się około minuty. Należy więc ostrożnie dawkować lek u osób z chorobą niedokrwinną serca oraz u osób starszych. Efekt ten spowodowany może być ujemnym działaniem inotropowym propofolu oraz obwodowym rozszerzeniem naczyń po jego zastosowaniu, może także prowadzić do zmniejszenia pojemności minutowej serca.<sup>61,81</sup>

Badania dotyczące częstości występowania działań niepożądanych propofolu połączonego z remifentanylą zastosowanych łącznie do uzyskania znieczulenia całkowitego dożylnego wykazały wystąpienie jedynie 28 przypadków takich działań, w grupie 6161 badanych pacjentów (0,45%), z czego najczęstszymi była hipotensja i bradykardia.<sup>4</sup>

Szczególnym działaniem niepożądanym propofolu jest „zespół propofolowy” zwany też „poinfuzyjnym syndromem propofolowym” (PRIS – propofol infusion syndrome). Jest to rzadki stan kliniczny charakteryzujący się kwasicą mleczanową, rabdomiolizą, hipertriglicydemią, hiperkaliemią, uszkodzeniem nerek, zapaścią sercowo – naczyniową, nabytym elektrokardiograficznym obrazem zespołu Brugadów oraz hepatomegalią. Występowanie zespołu propofolowego wiąże się ze stosowaniem wysokich dawek propofolu w długotrwałych infuzjach (>48h).<sup>81,82</sup>

Prawdopodobnym mechanizmem powstawania PRIS jest rozpad mięśni indukowany propofolem. Na poziomie komórkowym jest to spowodowane zaburzeniem rozkładu kwasów tłuszczowych w mitochondriach, zaburzona zostaje podaż substratów w łańcuchu oddechowym i równowaga pomiędzy energią potrzebną a dostarczaną do mięśni. Następuje wówczas rozpad mięśni i uwolnienie do krwiobiegu produktów ich

rozkładu takich jak np. mioglobina, która może powodować niewydolność nerek. Dalej prowadzi to do akumulacji mocznika i kreatyniny oraz innych substancji wydalanych w warunkach fizjologicznych przez nerki. W zależności od siły i czasu trwania dysfunkcji nerek, do procesów akumulacji dołączają kwasica metaboliczna i hiperkaliemia. Może to prowadzić do wystąpienia ostrej niewydolności nerek.<sup>65,81,82</sup>

Tabela 4

Działania niepożądane propofolu<sup>81</sup>

<b>GŁÓWNE DZIAŁANIA NIEPOŻĄDANE PROPOFOLU</b>
Ból w miejscu podania
Hipotensja i bradykardia
Przejęciowy bezdech
Głęboka sedacja przy zastosowaniu małych dawek
Drgawki
Euforia, halucynacje, odhamowanie seksualne
Zespół propofolowy
Zapalenie żył

## 2.6. Interakcje

Nowoczesna anestezjologia wymaga użycia kilku leków aby zapewnić wszystkie komponenty znieczulenia, jednocześnie nie zaburzając funkcji oddechowych i hemodynamicznych. Z powodu tzw. małego okna terapeutycznego leków stosowanych do uzyskania znieczulenia, potrzebna jest dokładna charakterystyka tych leków oraz możliwości ich wzajemnych oddziaływań, co umożliwi uzyskanie optymalnych efektów terapeutycznych przy minimalizacji ryzyka wystąpienia działań niepożądanych. Obserwowanym często klinicznym efektem łączenia propofolu z innymi substancjami działającymi depresyjnie na OUN jest spotęgowanie jego działania uspokajającego i wzrost ryzyka depresji sercowo – oddechowej.<sup>64</sup>

Interakcje propofolu z innymi lekami stosowanymi jednocześnie w celu zapewnienia optymalnej anestezji wydają się być istotnym zagadnieniem, gdyż udowodniono hamujący wpływ propofolu na hemodynamikę i metabolizm wątrobowy. Podczas stosowania TCI odnotowano, że wraz ze wzrostem dawek propofolu, jego

stężenia rosną w sposób szybszy niż było to przewidywane. Takie obserwacje sugerują, że propofol wpływa na swoją własną dystrybucję i eliminację. Udowodniono bowiem, że propofol może zmniejszać rzut serca i wątrobowy przepływ krwi. Efektem tego mogą dalej być zmniejszony klirens propofolu i jego wolniejsza dystrybucja do kompartmentu peryferyjnego.<sup>83</sup>

Obecnie bardzo częstym połączeniem leków stosowanych w anestezjologii jest zestawienie hipnotyku np. propofolu z lekiem opioidowym – fentanylem, remifentanylem czy sulfentanylem. Dostępne dane sugerują, że opioidy mogą zmieniać dystrybucję i eliminację propofolu. Fentanyl i alfentanyl zwiększają klirens propofolu, a podanie propofolu jednocześnie z alfentanylem zwiększyło wartości jego stężeń w osoczu o 20%. Nie wyjaśniono jednak mechanizmu wpływu opioidów na farmakokinetykę propofolu. W badaniach nad interakcjami między wymienionymi wyżej lekami, zaobserwowano także działanie odwrotne – hamowanie przez propofol farmakokinetyki opioidów np. alfentanylu i sulfentanylu. Wyjaśnieniem mechanizmu tej interakcji jest prawdopodobnie hamujący wpływ propofolu na reakcje oksydacji przebiegające z udziałem cytochromu P450. Klinicznie interakcja ta przekłada się na synergistyczne działanie tych dwóch leków i nasilenie efektu sedatywnego i analgetycznego takiego połączenia.<sup>83</sup> Fentanyl, alfentanyl i remifentanyl zmniejszają stężenia propofolu potrzebne do uzyskania hipnozy. Nie zaobserwowano natomiast zmian stężeń potrzebnych do utraty przytomności pacjenta podczas indukcji znieczulenia z jednoczesnym użyciem propofolu i sulfentanylu.<sup>84,85</sup>

W praktyce anestezjologicznej propofol jest również często łączony z midazolamem – jako składnik znieczulenia złożonego, TIVA lub w sedacji. Ponieważ propofol hamuje reakcje oksydacji w metabolizmie wielu leków, podejrzewano, że może on działać w podobny sposób na midazolam powodując synergizm działania obu leków. W badaniach *in vivo* zaobserwowano zmniejszenie klirensu midazolamu po zastosowaniu go w połączeniu z propofolem, co klinicznie przekłada się na wydłużenie stanu senności pacjentów i upośledzenie ich sprawności psychofizycznej. Ponieważ farmakokinetyka podanego dożylnie midazolamu zależy wyłącznie od aktywności cytochromu P450 CYP 3A4 badania Hamaoki i wsp.<sup>86</sup> wskazują na hamowanie przez propofol tej izoformy.<sup>86</sup>

Klonidyna, lek używany w premedykacji w celu uspokojenia pacjenta i zmniejszenia lęku, również może interferować z propofolem. Doświadczalnie wykazano zmniejszenie stężenia propofolu (o 50 - 65%) niezbędnego do wywołania

utraty świadomości przy wcześniejszym zastosowaniu klonidyny – agonisty receptorów  $\alpha_2$ -adrenergicznych.<sup>87</sup>

Z klinicznego punktu widzenia istotna mogłaby być interakcja między propofolem i lekami miejscowo znieczulającymi. Ponieważ propofol jest przede wszystkim hipnotykiem nie wykazującym efektu analgetycznego, do uzyskania zadowalającej anestezji wykorzystywane jest jego połączenie z komponentą miejscowo znieczulającą.<sup>88</sup> Niestety dotychczasowe doniesienia nie dają jednoznacznej odpowiedzi co do istnienia interakcji pomiędzy tymi lekami. Zarówno propofol jak i lidokaina są metabolizowane przez te same izoformy cytochromu P450 – CYP 1A2 oraz CYP 3A4, co mogłoby sugerować ich wzajemne oddziaływanie na poziomie metabolizmu wątrobowego. W badaniu Inomaty i wsp.<sup>10</sup> wykazano hamujący wpływ propofolu na metabolizm lidokainy w badaniu *in vitro* z wykorzystaniem ludzkich i szczurzych mikrosomów.<sup>10</sup> Natomiast w badaniu wpływu propofolu na metabolizm lidokainy podawanej zewnątrzoponowo (*in vivo*) nie zaobserwowano hamującego efektu leku.<sup>82</sup> Te same izoformy cytochromu P450, które biorą udział w metabolizmie lidokainy odpowiadają za metabolizm ropiwakainy. W tym przypadku również badania *in vitro* z wykorzystaniem ludzkich mikrosomów wykazały hamujące właściwości propofolu względem leku miejscowo znieczulającego.<sup>89</sup>



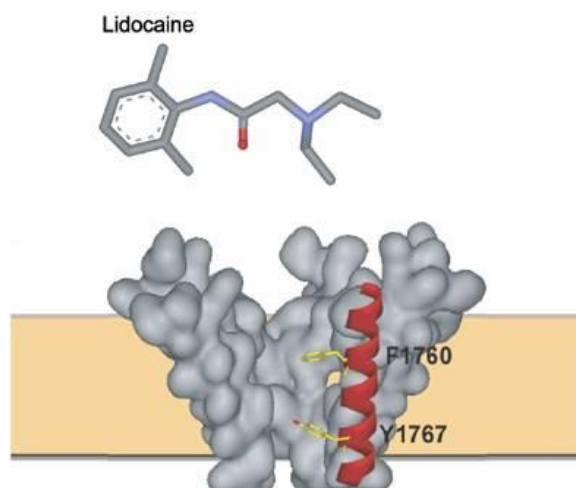
### 3. ŚRODKI ZNIECZULAJĄCE MIEJSCOWO – LIDOKAINA I BUPIWAKAINA

#### 3.1. Mechanizm działania

Środki znieczulające miejscowo powodują odwracalne przerwanie przewodnictwa we włóknach nerwowych przez stabilizujące działanie na błonę komórek nerwowych. Stabilizacja błony neuronalnej odbywa się przez hamowanie przepływu jonów sodowych w obrębie napięciowo-zależnych kanałów jonowych, potrzebnych do wyzwolenia i przewodzenia impulsów nerwowych. Amplituda i szybkość wzrostu potencjału czynnościowego komórki nerwowej maleją, natomiast próg pobudliwości oraz okres refrakcji rosną. W efekcie błona komórki nerwowej staje się zupełnie niepobudliwa.<sup>61, 90, 91, 92</sup>

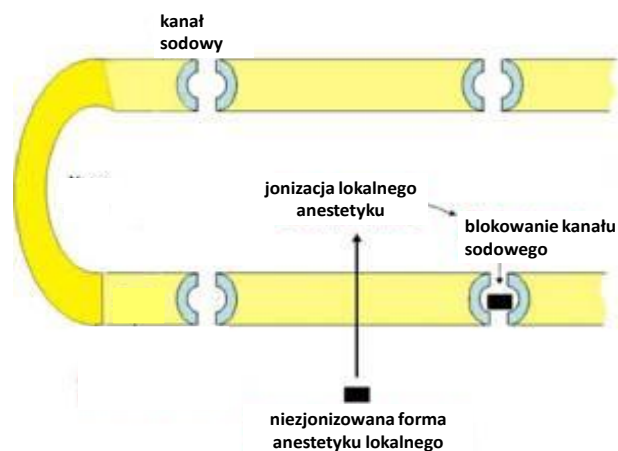
Głównym miejscem działania anestetyków lokalnych jest błona komórki nerwowej zbudowana z podwójnej warstwy fosfolipidowej, do której z każdej strony przylega warstwa białka. W matrycy lipidowej ulokowane są białka tworzące kanały dla różnych jonów, przy czym dla działania anestetyków zasadnicze znaczenie mają kanały sodowe.<sup>61</sup> Kanał sodowy składa się z podjednostek:  $\alpha$ ,  $\beta 1$  i  $\beta 2$ . Podjednostkę  $\alpha$  tworzą cztery domeny D1, D2, D3 oraz D4. Każda z tych domen składa się z sześciu  $\alpha$ -helikalnych transmembranowych segmentów – S1 - S6. Miejscem wiązania lokalnych anestetyków jest fenyloalanina (F 1760) i tyrozyna (Y 1767) na podjednostce D4 – S6.<sup>93</sup>

Rycina 4

Mechanizm działania anestetyków lokalnych<sup>94</sup>

Kanał sodowy może znajdować się w jednym z trzech stanów: aktywny i otwarty, nieaktywny i zamknięty, spoczynkowy i zamknięty.<sup>61</sup> W stanie spoczynku po zewnętrznej stronie błony komórkowej płyn jest bogaty w jony sodowe a ubogi w jony potasu, natomiast po wewnętrznej stronie stosunek jest odwrotny. Pomiedzy dwiema stronami błony istnieje różnica potencjału. Błona jest nieprzepuszczalna dla jonów, co w spoczynku zapewnia stosunek między jonami potasu w płynie wewnątrz i zewnątrzkomórkowym 30:1, natomiast stężenie jonów sodowych jest 10 razy większe na zewnątrz komórki. W momencie pobudzenia przepuszczalność kanałów sodowych wzrasta i jony wędrują do wewnątrz. Anestetyki lokalne blokują napływ jonów sodowych, docierając do aksoplazmatycznego otworu kanału sodowego od wewnętrznej strony błony. Nienaładowany zasadowy anestetyk najpierw dyfunduje przez błonę nerwu do aksoplazmy, tam dysocjuje i następnie jego kationowa forma przyłącza się do miejsca wiązania w kanale sodowym, stabilizując jego zamkniętą, nieaktywną formę.<sup>61, 91</sup>

Rycina 5

Blokowanie kanałów sodowych przez anestetyki lokalne<sup>95</sup>

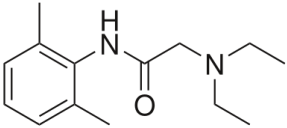
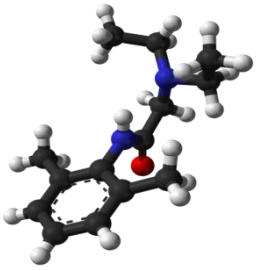
Włókna nerwowe różnią się grubością, która warunkuje wrażliwość na blokujące właściwości anestetyków. Wraz ze wzrostem grubości włókna, potrzebne jest większe stężenie środka znieczulającego w celu uzyskania blokady. Różne włókna nerwowe są blokowane w różnej kolejności – pierwsze blokowane są włókna współczulne, następnie zniesione jest czucie bólu i temperatury a na końcu odczucie dotyku, ucisku i motoryki. Pozwala to w praktyce klinicznej zahamować poszczególne nerwy w zależności od potrzeb – np. wyłączenie czucia przy zachowaniu motoryki podczas porodu.<sup>61</sup>

## 3.2. Budowa i właściwości fizykochemiczne środków miejscowo znieczulających – lidokainy i bupiwakainy

### 3.2.1. Budowa i właściwości fizykochemiczne lidokainy

Tabela 5

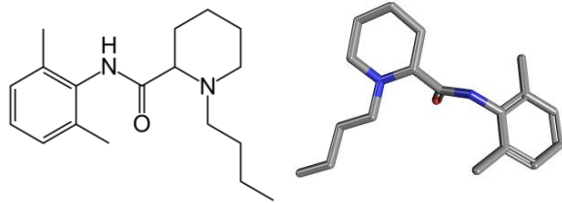
Charakterystyka i właściwości fizykochemiczne lidokainy<sup>3, 96, 97, 98, 99, 100</sup>

Nazwa systematyczna	Lidokaina
<b>Nazwa chemiczna</b>	2-(Dietyloamino)-N-(2,6-dimetylofenylo)-acetamid 2-Dietyloaminoaceto-2',6'-ksylidyd
<b>Nazwa handlowa</b>	Lidocain-Egis, Lidokainy chlorowodorek, Lidoposterin, Lignocain, Lignocainum hydrochloricum, Lignocainum Jelfa, Lignocainum WZF, Plidocain, Xylocaine
<b>Wzór strukturalny</b>	 
<b>Wzór sumaryczny</b>	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O
<b>Masa cząsteczkowa</b>	234,34 g/mol
<b>Postać</b>	Proszek
<b>Temperatura topnienia</b>	66 - 69°C
<b>Temperatura wrzenia</b>	181°C
<b>Rozpuszczalność</b>	Łatwo rozpuszczalny w eterze dietylowym, alkoholu, chloroformie, nierozpuszczalny w wodzie
<b>Postać farmaceutyczna</b>	1,2 i 5% roztwór chlorowodoru lidokainy do wstrzykiwań, żel, maść
<b>pH</b>	Roztwór wodny chlorowodoru 6,5
<b>pKa</b>	7,86
<b>Charakter</b>	Słaba zasada
<b>Kolor</b>	Biały lub żółtawy
<b>Substancje pomocnicze w preparatach handlowych</b>	Sodu chlorek, sodu wodorotlenek 10 % (do ustalenia pH), woda do wstrzykiwań
<b>Klasyfikacja ATC</b>	C 01 BB, C 05 AD, D 04 AB, N 01 BB, R 02 AD, S 01 HA, S 02 DA

## 3.2.2. Budowa i właściwości fizykochemiczne bupiwakainy

Tabela 6

Charakterystyka i właściwości fizykochemiczne bupiwakainy<sup>3,100,101,102</sup>

Nazwa zwyczajowa	Bupiwakaina
Nazwa chemiczna/systematyczna	1-butylo- <i>N</i> -(2,6-dimetylofenylo)piperydino-2-karboksyamid, 2',6'-Pipicoloxylidide
Nazwa handlowa	Bupivacaine WZF, Bupivacaine hydrochloricum, Mercaine
Wzór strukturalny	
Wzór sumaryczny	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O
Masa cząsteczkowa	288,43
Postać	Proszek
Temperatura topnienia	107-108 °C
Temperatura wrzenia	258,5 °C
Rozpuszczalność	Dobrze rozpuszczalny w wodzie
Postać farmaceutyczna	Roztwór 0,25%; 0,5%; 0,75%
pH	Wodny roztwór chlorowodoru pH=6
pKa	8,1
Charakter	Słaba zasada
Kolor	Biały
Substancje pomocnicze w preparatach handlowych	sodu chlorek, 0,4% sodu wodorotlenek (do dostosowania pH), 0,85% kwas solny (do dostosowania pH), woda do wstrzykiwań, glukoza bezwodna
Klasyfikacja ATC	N 01 BB

### 3.3. Farmakokinetyka

Tabela 7

Podstawowe parametry farmakokinetyczne lidokainy i bupiwakainy <sup>3,101,103,104</sup>

Parametr	Lidokaina	Bupiwakaina
<b>Biologiczny okres półtrwania</b>	1,5-2h	Dorośli 1,5 – 5,5 h Noworodki 8,1 h
<b>Klirens</b>	0,95 l/min	0,47 l/min
<b>Objętość dystrybucji</b>	91 l	73 l
<b>Stopień wiązania z białkami osocza</b>	70%	95 %
<b>Współczynnik ekstrakcji wątrobowej</b>	0,65	0,38

#### 3.3.1. Farmakokinetyka lidokainy

Lidokaina po podaniu miejscowym ulega szybkiej absorpcji do krwi. Czas, w którym jest osiągnięte maksymalne stężenie zależy od miejsca podania leku – przede wszystkim jego stopnia ukrwienia. Dobra rozpuszczalność w lipidach warunkuje jej wchłanianie z błon śluzowych. Pozwala to na stosowanie lidokainy z pominięciem krążenia wrotnego, w postaciach do miejscowego stosowania np. żelach lub aerozolu.<sup>105</sup>

W przypadku podania doustnego lidokaina wchłaniana jest szybko, ulega absorpcji w ok. 95%, jednak skutek efektu pierwszego przejścia jedynie 30% leku osiąga krążenie ogólne. Z tego powodu doustna postać lidokainy stosowana bywa jedynie w celu oceny czynności wątroby, natomiast w kardiologii wykorzystuje się podanie dożylnie, a w anestezjologii miejscowe.<sup>106,107</sup> Podczas miejscowego stosowania lidokainy wykorzystywane jest łączenie jej ze środkiem obkurczającym naczynia krwionośne – adrenaliną. Pozwala to na 30-40% obniżenie stężeń lidokainy we krwi i tym samym zmniejszenie ryzyka działań toksycznych oraz wydłużenie czasu działania leku.<sup>108,109</sup>

Po osiągnięciu krążenia ogólnego lidokaina ulega szybkiej dystrybucji. Farmakokinetyka leku jest najlepiej opisywana za pomocą modelu dwukompartamentowego, gdzie lek jest najpierw transportowany do tkanek silnie ukrwionych, takich jak serce, wątroba, nerki, mózg i płuca, a następnie do tkanek o słabszej perfuzji – mięśniowej i tłuszczowej.<sup>61,110</sup> Lidokaina wiąże się w znacznym stopniu z białkami osocza – 65 - 70%, głównie z kwaśną  $\alpha_1$ -glikoproteina (około 70% związanej lidokainy) oraz w mniejszym stopniu z albuminą (30% związanego leku).<sup>3,</sup>

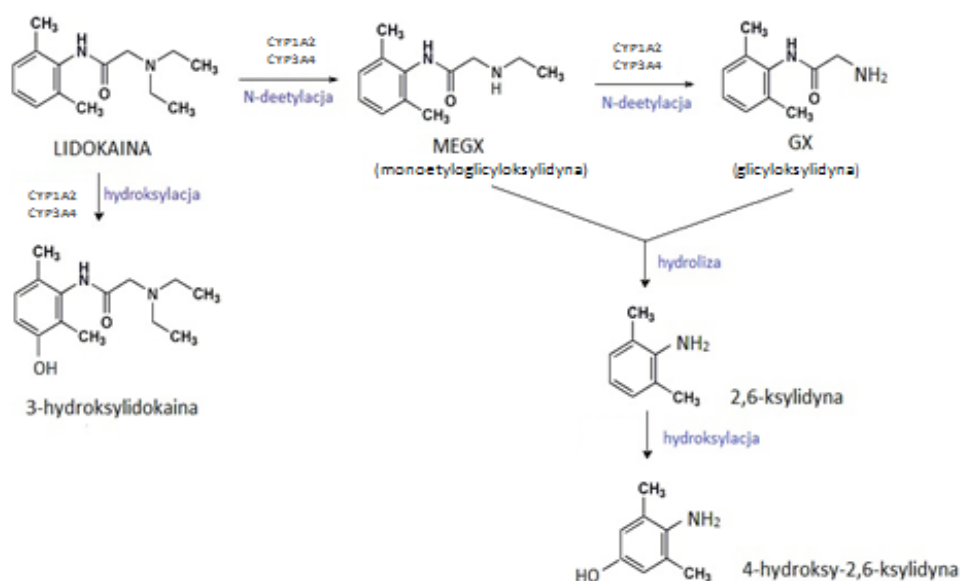
103, 105

Lidokaina jest usuwana z organizmu niemal wyłącznie dzięki metabolizmowi wątrobowemu.<sup>111,112</sup> Głównym szlakiem metabolizmu lidokainy jest jej N – deetylacja do monoetyloglicyloksylidyny (MEGX) a następnie do glicyloksylidyny (GX). Kolejnym etapem jest hydroliza glicyloksylidyny do 2,6 - ksyldyny, która po utlenieniu wydalana jest z moczem w postaci 4 - hydroksyl - 2,6 - ksyldyny – głównego metabolitu stwierdzanego w moczu. Istnieje jeszcze szlak metaboliczny o mniejszym znaczeniu klinicznym, w którym zarówno lidokaina jak i jej metabolit MEGX ulegają hydroksylacji w pierścieniu aromatycznym.<sup>103,107,112,113</sup>

Metabolity MEGX oraz GX są aktywne biologicznie, przy czym wykazują odpowiednio 75% oraz 10% aktywności związku macierzystego.<sup>105,107</sup>

Za metabolizm lidokainy odpowiedzialne są dwie izoformy cytochromu P 450 CYP 1A2 oraz CYP 3A4, z czego izoforma CYP 1A2 jest w dwóch trzecich odpowiedzialna za przemianę lidokainy, natomiast CYP 3A4 za jedną trzecią.<sup>10,12,89,112,114</sup> Objętość dystrybucji wynosi 91 l a klirens 0,95 l/min. Eliminacja z krwi przebiega dwufazowo. Czas  $t_{0,5}$  fazy szybkiej eliminacji wynosi 7-9 min, a fazy wolnej 3 h.<sup>91</sup> Wydalanie leku odbywa się głównie przez nerki, przy czym prawie 80% dawki leku wykrywanej jest w moczu w postaci metabolitów, w stanie niezmienionym wydalana jest przez nerki w ilości 2 – 10% a 7% wydzielane jest do żółci. W moczu pojawiają się także MEGX i GX w ilości odpowiadającej 2,5% i 2% dawki.<sup>3,112,115</sup>

Rycina 5

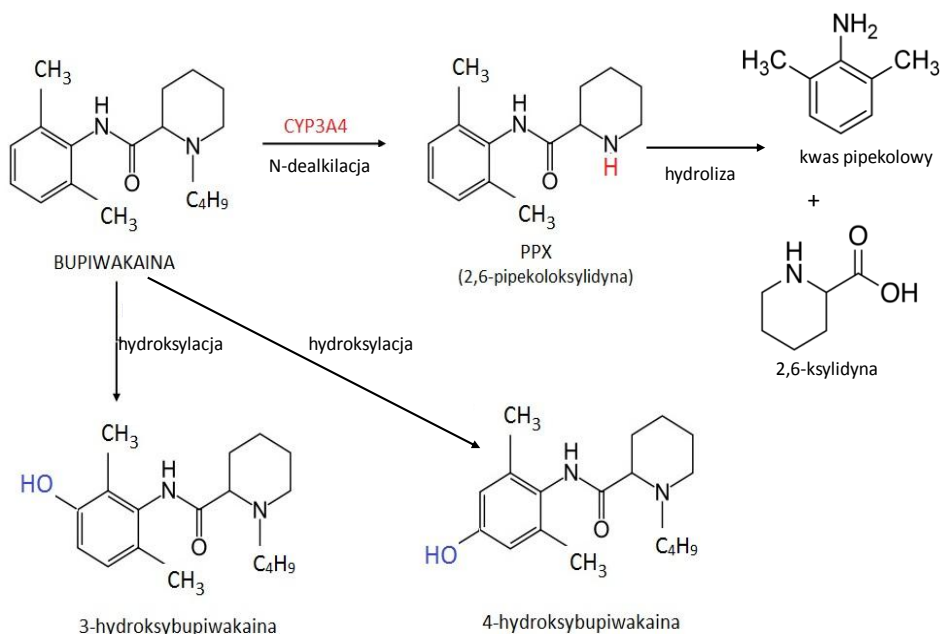
Schemat metabolizmu lidokainy<sup>112,115,116,117</sup>

### 3.3.2. Farmakokinetyka bupiwakainy

Charakterystyczną cechą bupiwakainy jest jej długi czas działania. Początek efektu znieczulającego leku zależy od miejsca podania i zastosowanej dawki. W przypadku znieczulenia nasiękowego działanie pojawia się już po 2 – 10 minutach, efekt szczytowy następuje około 30 – 45 minuty, a czas działania wynosi 200 – 400 minut. Kliniczny efekt znieczulenia zewnątrzoponowego pojawia się po czasie 4 – 17 minut, maksymalny efekt występuje około pół godziny po podaniu i może utrzymywać się od 200 do 400 minut. Najszybszy efekt obserwujemy po podaniu podpajęczynówkowym – mniej niż jedna minuta, a już po 15 minutach występuje efekt maksymalny. W tym przypadku blokada może utrzymywać się również do 400 minut.<sup>92</sup> Po podaniu zewnątrzoponowym lek wchłaniany jest dwufazowo i całkowicie, a okresy półtrwania wynoszą odpowiednio 7 minut i 6 godzin. Mała szybkość wchłaniania wpływa na długi czas działania leku.<sup>104</sup>

Bupiwakaina w znacznym stopniu wiąże się z białkami osocza w 88 – 96%, głównie z kwaśną  $\alpha_1$  – glikoproteiną oraz w mniejszym stopniu z albuminą.<sup>3, 61</sup> Ostatnie doniesienia sugerują zmiany farmakokinetyki lokalnych anestetyków u kobiet w ciąży oraz pacjentów po operacjach spowodowane różnicami w ilości kwaśnej  $\alpha_1$  – glikoproteiny i stopniu wiązania z białkami.<sup>118</sup>

Objętość dystrybucji dla bupiwakainy wynosi 73 l, a klirens 0,47l/min.<sup>3</sup> Metabolizm bupiwakainy zachodzi głównie w wątrobie i zależy przede wszystkim od zmian aktywności enzymów wątrobowych, w mniejszym stopniu od perfuzji wątrobowej. Współczynnik ekstrakcji wątrobowej bupiwakainy wynosi bowiem 0,38.<sup>104</sup> Pod wpływem enzymów cytochromu P450 bupiwakaina ulega N – dealkilacji z wytworzeniem jej głównego, mniej toksycznego metabolitu – pipekoloksyliidyny (PPX), który dalej może być hydrolizowany i wydalany w postaci koniugatów z kwasem glukuronowym. W postaci niezmienionej wydalane jest z moczem tylko 1 - 6% bupiwakainy w ciągu 24 godzin i około 5% dawki wydalane jest jako PPX. Inną drogą metabolizmu bupiwakainy jest hydroksylacja pierścienia fenyłowego w pozycji 3 lub 4 z powstaniem 3- oraz 4-hydroksybupiwakainy. Ogółem w moczu wykryto aż osiemnaście rodzajów hydroksylowanych metabolitów bupiwakainy. Głównym enzymem cytochromu P450 katalizującym reakcję przemiany bupiwakainy do PPX jest CYP 3A4, ale badania wskazują także możliwość niewielkiego udziału izoform CYP 2C19 oraz CYP 2D6 w metabolizmie bupiwakainy.<sup>3,11,104, 119,120,121</sup>

Metabolizm bupiwakainy<sup>121,122</sup>

### 3.4. Właściwości farmakologiczne leków miejscowo znieczulających – lidokainy i bupiwakainy

Bupiwakaina wywiera około cztery razy silniejsze działanie znieczulające od lidokainy, jest jednak także 4-5 razy bardziej toksyczna. Szczególnie silne jest działanie kardi toksyczne bupiwakainy. Nawet jej terapeutyczne dawki mogą powodować komorowe zaburzenia rytmu serca, czego nie obserwuje się po stosowaniu lidokainy. Prawdopodobnie zaburzenia akcji serca po zastosowaniu bupiwakainy spowodowane są wydłużoną blokadą kanałów sodowych. Blokada ta występuje nie tylko w komórkach nerwowych, ale także w komórkach mięśnia sercowego, gdzie dużo wolniejsza dysocjacja leku z receptora niż szybkość jego wiązania z receptorem powoduje zaburzenia w pracy serca. Takie przedłużone wiązanie z kanałem sodowym może być przyczyną utrudnionej resuscytacji w przypadku zatrzymania akcji serca po zastosowaniu bupiwakainy.<sup>61</sup>

W porównaniu z bupiwakainą, lidokaina jest substancją szybko łączącą się z receptorem, ale również szybko go opuszczającą. Dysocjuje dziesięć razy szybciej



z miejsca receptorowego niż bupiwakaina i stwarza znacznie mniejsze ryzyko wystąpienia arytmii komorowych.<sup>61</sup>

Lidokaina jest także stosowana w kardiologii w leczeniu dodatkowych pobudeń komorowych i częstoskurczów w ostrym zawale mięśnia sercowego. Bywa także stosowana profilaktycznie w celu zapobiegania migotaniu komór. Jest lekiem antyarytmicznym klasy 1B. Hamuje automatyzm serca, skraca okres refrakcji i potencjałów czynnościowych w mięśniu sercowym.<sup>61,92</sup>

### 3.5. Zastosowanie kliniczne

Lidokaina może być stosowana do wszystkich rodzajów znieczuleń miejscowych: powierzchniowych, infiltracyjnych, blokady nerwów obwodowych a także splotów i zwojów nerwowych, zewnątrzoponowych, podpajęczynówkowych oraz odcinkowych dożylnych. Stosowana jest do przerywania zagrażających życiu komorowych zaburzeń rytmu serca szczególnie w początkowej fazie zawału mięśnia sercowego oraz podczas zabiegów kardiochirurgicznych. Podana dożylnie znajduje zastosowanie do zapobiegania zmianom hemodynamicznym towarzyszącym intubacji, czyli wzrostowi ciśnienia tętniczego i śródczaszkowego.<sup>3,61,91</sup>

Bupiwakaina jest lekiem stosowanym do znieczuleń miejscowych. Wykorzystywana jest przede wszystkim do znieczulenia podpajęczynówkowego i zewnątrzoponowego, ale także może być używana do znieczulenia nasiękowego, splotów i zwojów nerwowych. Szczególnie polecana jest do znieczulenia w ginekologii i położnictwie ze względu na zapewnienie silnej blokady czuciowej przy znacznie słabszym hamowaniu motoryki. Bupiwakaina jest także często stosowana w celu zapewnienia analgezji pooperacyjnej po zabiegach ortopedycznych i operacjach w obrębie jamy brzusznej. Z powodu działania kardiotoksycznego nie nadaje się natomiast do dożylnego znieczulenia regionalnego.<sup>3,61,92,118</sup>

Bupiwakaina działa czterokrotnie silniej niż lidokaina, ale jest też czterokrotnie bardziej toksyczna.<sup>61</sup>

Tabela 8

Kliniczne zastosowanie lidokainy i bupiwakainy<sup>61</sup>

Kliniczne zastosowanie leków znieczulających miejscowo – lidokainy i bupiwakainy						
Lek	Zastosowanie	Stężenie (%)	Objętość (ml)	Czas wystąpienia działania (min)	Czas działania (min)	Maksymalna dawka jednorazowa (mg)
<b>Lidokaina</b>	Infiltracja	0,5 – 1				200 mg bez adrenaliny 500 mg z adrenaliną
	Blokada dużych nerwów	1 – 1,5	30-50	10-20	120-240	
	Znieczulenie zewnątrzoponowe	1 – 2	15-30	5-15	30-90	
	Znieczulenie podpajęczynówkowe	5 hiperbar	1-2		30-90	
<b>Bupiwakaina</b>	Infiltracja	0,25 – 0,5		120-240 bez adrenaliny 180-420 z adrenaliną		150 mg z adrenaliną i bez adrenaliny
	Blokada dużych nerwów	0,25 – 0,5	30 – 50	360 – 720	15 – 30	
	Znieczulenie zewnątrzoponowe	0,25 – 0,75	15-30	180 – 300	10 – 20	
	Znieczulenie podpajęczynówkowe	0,5	2-4	75 – 150		

### 3.6. Działania niepożądane

#### 3.6.1. Lidokaina – działania niepożądane

Występowanie działań niepożądanych lidokainy jest związane najczęściej z przekroczeniem zalecanych stężeń terapeutycznych. Może to być wynikiem przedawkowania, ale także upośledzenia czynności wątroby, niewydolnością krążenia czy podaniem leku do światła naczynia krwionośnego.<sup>91,104</sup>

Działania niepożądane lidokainy mogą pojawić się ze strony różnych układów, przy czym najczęściej dotyczą one układu krążenia i ośrodkowego układu nerwowego.

Wśród działań niepożądanych dotyczących układu krążenia obserwuje się najwięcej przypadków hipotensji, bradykardii, arytmii oraz zaburzeń przewodnictwa w mięśniu sercowym. W przypadku dużego ogólnoustrojowego stężenia leku mogą pojawić się objawy zatrucia ze strony układu sercowo-naczyniowego, najczęściej po przekroczeniu stężenia 8µg/ml. Do objawów tych należą znaczne obniżenie ciśnienia tętniczego, bradykardia, blok przedsionkowo-komorowy, migotanie przedsionków, częstoskurcz komorowy oraz zatrzymanie akcji serca.<sup>91,103</sup>

Drugim układem, ze strony którego działania niepożądane lidokainy pojawiają się najczęściej jest układ nerwowy. Często pojawiające się zaburzenia to parestezje i zawroty głowy, objawy toksycznego działania leku na ośrodkowy układ nerwowy. Rzadko obserwuje się uszkodzenie nerwów obwodowych, neuropatie i zapalenie pajęczynówki. Za próg toksyczności lidokainy dla ośrodkowego układu nerwowego przyjmuje się stężenie powyżej 5 µg/ml, po przekroczeniu którego objawy zatrucia narastają stopniowo. Początkowo obserwuje się drętwienie ust, języka, pojawiają się szumy w uszach, podwójne widzenie, drżenia mięśniowe, euforia, niepokój, nudności i wymioty. Przekroczenie stężenia 8 µg/ml może spowodować konwulsje, utratę przytomności i śpiączkę, a powyżej 20 µg/ml może wystąpić depresja ośrodka oddechowego i zatrzymanie oddychania.<sup>92,103,123,124</sup>

Podobnie jak większość leków, lidokaina może spowodować wystąpienie niecharakterystycznych reakcji alergicznych jak świąd, pokrzywka, obrzęk naczynioruchowy, a w najcięższych przypadkach wstrząs anafilaktyczny, jednak działania takie pojawiają się rzadko.<sup>92,103</sup>

Podczas znieczulenia zewnątrzoponowego i podpajęczynówkowego może wystąpić wysokie znieczulenie rdzeniowe, utrata kontroli zwieraczy oraz stałe ubytki czuciowe i ruchowe.<sup>92</sup>

### 3.6.2. Bupiwakaina – działania niepożądane

Główne działania niepożądane bupiwakainy występują ze strony układu krążenia i układu nerwowego. Toksyczność bupiwakainy jest cztery razy większa niż lidokainy.<sup>3</sup> Szczególnie silnie zaznacza się efekt kardi toksyczny bupiwakainy. Często po jej zastosowaniu pojawiają się spadki ciśnienia i bradykardia, a w ciężkich przypadkach może dojść nawet do zaburzeń i zatrzymania akcji serca. Bupiwakaina

wiąże się silnie z kanałami sodowymi w mięśniu sercowym, powodując długie ich zablokowanie, co może prowadzić do zwolnienia przewodnictwa w układzie bodźco – przewodzącym serca. W wyższych stężeniach lek blokuje także kanały potasowe i wapniowe, prowadząc do dalszego zwalniania częstości rytmu serca i w końcu do rozkojarzenia elektromechanicznego. Wysokie stężenia leku blokują także receptory  $\beta$ -adrenergiczne i hamują metabolizm na poziomie mitochondrialnym komórek mięśnia sercowego. Mechanizmy te sprawiają, że po zatruciu bupiwakainą resuscytacja jest często nieskuteczna.<sup>104,125</sup>

Anestetyki lokalne charakteryzują się również działaniem neurotoksycznym, jednak badania sugerują mniejszą toksyczność bupiwakainy niż lidokainy w tym zakresie.<sup>126</sup> Działania niepożądane bupiwakainy dotyczące układu nerwowego to najczęściej parestezje i zawroty głowy, rzadziej pojawiają się objawy toksyczności ze strony ośrodkowego układu nerwowego, a bardzo rzadko neuropatie, uszkodzenia nerwów obwodowych i zapalenie pajęczynówki. Objawy zatrucia ze strony układu nerwowego narastają stopniowo. Na początku pojawia się drętwienie języka, ust i ich okolicy, szumy w uszach, zaburzenia widzenia i zawroty głowy, następnie skurcze mięśni, które mogą poprzedzać wystąpienie uogólnionych drgawek i utratę przytomności. Zwiększona aktywność mięśniowa wraz z zaburzeniami oddychania podczas drgawek mogą prowadzić do hipoksji i hiperkapnii, które nasilają działanie toksyczne środków miejscowo znieczulających. W ciężkich przypadkach może dojść do niewydolności oddechowej i zatrzymania oddechu.<sup>104</sup>

Po zastosowaniu bupiwakainy rzadko obserwowane są reakcje alergiczne, ale w literaturze opisywane są przypadki pokrzywki, obrzęku naczynioruchowego, a także wstrząsu anafilaktycznego.<sup>92,104</sup>

Podczas znieczulenia zewnątrzoponowego i podpajęczynówkowego może pojawić się wysokie znieczulenie rdzeniowe z hipotensją. Częstym działaniem niepożądanym są bóle głowy i pleców.<sup>92</sup>

### **3.7. Interakcje wybranych leków miejscowo znieczulających – lidokainy i bupiwakainy**

Anestetyki lokalne mogą wykazywać wiele interakcji z innymi lekami. Praktycznym ich wykorzystaniem jest stosowanie leków miejscowo znieczulających

w połączeniu z adrenaliną, co pozwala przedłużyć czas działania leku, zmniejszyć dawkę, zapewnić odpowiednie stężenie w miejscu zastosowania oraz zredukować ryzyko wystąpienia efektów toksycznych.<sup>127</sup>

Interakcje w fazie farmakokinetycznej lidokainy wynikają w głównej mierze z zależności jej kinetyki od wątrobowego przepływu krwi, aktywności enzymatycznej wątroby oraz stopnia wiązania z białkami.<sup>128</sup> Lidokaina jest słabą zasadą, która łączy się głównie z kwaśną  $\alpha_1$  – glikoproteiną i może być z tego połączenia wypierana przez inne zasadowe leki jak np. opioidy. W wysokich stężeniach (10 $\mu$ g/ml) lidokaina wiąże się z albuminami, z którego to połączenia może zostać wyparta przez np. salicylany. Prowadzi to najczęściej do wystąpienia toksycznych efektów charakterystycznych dla amidowych anestetyków lokalnych.<sup>127</sup> Bupiwakaina wypiera lidokainę z jej połączeń z białkami, przez co zwiększa stężenie jej frakcji wolnej w surowicy. Zmniejszenie ilości kwaśnej  $\alpha_1$  – glikoproteiny, powodujące zwiększenie frakcji wolnej lidokainy, może zachodzić pod wpływem estrogenów u kobiet w ciąży oraz stosujących doustną antykoncepcję hormonalną. Z drugiej strony, zwiększenie stężenia kwaśnej  $\alpha_1$  – glikoproteiny, a tym samym zwiększenie ilości związanej lidokainy występuje po zawale mięśnia sercowego, urazach, operacjach chirurgicznych, w chorobie Crohna i nowotworach.<sup>3, 124</sup>

Beta blokery, np. propranolol, przez zmniejszenie wątrobowego przepływu krwi u pacjentów z chorobami serca zmniejszają metabolizm leków o dużym współczynniku ekstrakcji wątrobowej, takich jak lidokaina, prowadząc do występowania niebezpiecznie wysokich stężeń leku.<sup>127, 128</sup>

Beta blokery mogą nasilać arytmogenne i depresyjne działanie leków miejscowo znieczulających.<sup>127</sup>

Leki  $\beta$ -adrenolityczne i cymetydyna obniżają klirens i zwiększają stężenie lidokainy w surowicy.<sup>3,92</sup> W przypadku bupiwakainy obniżenie klirensu wynosi 35%, co może powodować wystąpienie efektów toksycznych.<sup>3</sup>

Eliminacja amidowych anestetyków z moczem może być zmniejszona przez alkalizację moczu, która bywa obserwowana u pacjentów stosujących przewlekle leki zobojętniające.<sup>127</sup>

Badania nad interakcjami lokalnych anestetyków z midazolamem wykazały brak jego wpływu na stężenia bupiwakainy, natomiast zaobserwowano wzrost stałej szybkości eliminacji lidokainy i obniżenie jej stężeń we krwi.<sup>128</sup>

Połączenie leku miejscowo znieczulającego o budowie amidowej z lekami antyarytmicznymi zwiększa ryzyko kardiodepresyjnego działania tego anestetyku. Wykorzystanie lidokainy w kardiologii stwarza ryzyko wystąpienia interakcji z lekami stosowanymi w tej grupie chorych. Lidokaina – lek przeciwaritmiczny grupy IB - jest podawany często we wlewie dożylnym w leczeniu ostrych arytmii komorowych. Lek z tej samej grupy – meksyletyna jest głównie stosowana w postaci doustnej, w tym w domowej terapii antyarytmicznej. Gdy pacjent stosujący w domu meksyletynę otrzyma w szpitalu lidokainę, mogą pojawić się działania neurotoksyczne lidokainy. Meksyletyna zmniejsza klirens lidokainy i zwiększa jej stężenie, co może powodować pojawienie się ciężkich działań niepożądanych lidokainy.<sup>91,129</sup>

Leki z grupy antagonistów wapnia mogą nasilać kardiotoxyczny efekt amidowych anestetyków lokalnych przez bezpośredni efekt na błony komórek mięśnia sercowego. Bupiwakaina należy do najbardziej kardiotoxycznych środków znieczulenia miejscowego, a jej działania niepożądane nasilają się w hipoksji, kwasicy i hiperkaliemi.<sup>127</sup>

Klonidyna, lek działający agonistycznie w stosunku do receptorów  $\alpha_2$ -adrenergicznych, może zwiększać przeciwbólowy efekt środków miejscowo znieczulających. Lek ten ma zdolność wypierania lidokainy z połączeń białkowych i zwiększania ilości aktywnej biologicznie formy leku.<sup>130</sup> Kожарzenie klonidyny i bupiwakainy podczas znieczulenia podpajęczynówkowego powoduje skrócenie czasu pojawienia się oraz wydłużeniem czasu trwania blokady czuciowej i ruchowej.<sup>131</sup> Środki znieczulające miejscowo jak lidokaina i bupiwakaina mogą nasilać i przedłużać działanie depolaryzujących i niepolaryzujących środków zwiotczających. Efekty takie mogą wystąpić już po zastosowaniu małych dawek, natomiast duże dawki leków miejscowo znieczulających same blokują przewodnictwo nerwowo – mięśniowe.<sup>3,61</sup>

Stosowanie połączeń środków miejscowo znieczulających z opioidami pozwala na wykorzystanie ich synergistycznego działania i zmniejszenie dawek leków, tym samym minimalizowanie ryzyka toksyczności. Efekt taki zaobserwowano m. in. w badaniach nad stosowaniem bupiwakainy w połączeniu z morfiną, fentanylem lub sulfentanylem.<sup>132,133</sup>

Hamowanie enzymów wątrobowych może zwolnić metabolizm amidowych leków miejscowo znieczulających i zwiększyć ich stężenia we krwi, co zaobserwowano w przypadku jednoczesnego zastosowania ich z cymetydyną lub proporanołem.<sup>127</sup> Badania z wykorzystaniem silnego inhibitora enzymu CYP 3A4 – itrakonazolu, nie

wykazały istotnego wpływu na farmakokinetykę lidokainy, co potwierdza niewielki udział tego enzymu w metabolizmie lidokainy.<sup>134</sup> Natomiast wykazano jego hamujący wpływ na metabolizm bupiwakainy.<sup>135</sup> Hamujący wpływ na metabolizm lidokainy zaobserwowano w badaniach z użyciem leków metabolizowanych przez izoformę CYP 1A2. Silny inhibitor CYP 1A2 – fluwoksamina wydłuża okres półtrwania lidokainy z 2,6 do 3,5 h. Także paracetamol hamuje metabolizm lidokainy na poziomie enzymu CYP 1A2.<sup>136,137</sup> Z drugiej strony podawanie leków indukujących enzymy wątrobowe jak fenytoina czy barbiturany wymaga zwiększenia dawki lidokainy.<sup>3</sup>

Indukcje na etapie metabolizmu leków mogą powodować także czynniki środowiskowe jak np. dym tytoniowy. Badania pokazują, iż długotrwała ekspozycja na dym papierosowy prowadzi do zwiększenia aktywności enzymów cytochromu P450. W doświadczeniu na zwierzętach wykazano nasilenie procesów hydroksylacji bupiwakainy, zwiększenia jej eliminacji i obniżenia zawartości PPX w moczu pod wpływem dymu tytoniowego.<sup>138</sup>

## Metodyka badań

Badania przeprowadzono w Katedrze i Zakładzie Farmacji Klinicznej i Biofarmacji Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu, po uzyskaniu zgody Lokalnej Komisji Bioetycznej ds. Badań na Zwierzętach, przy współpracy Katedry i Zakładu Chemii Nieorganicznej i Analitycznej oraz Zakładu Dydaktyki Anestezjologii i Intensywnej Terapii Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu.

Badania przeprowadzono w dwóch częściach, które obejmowały:

- I. Wpływ godziny podania na farmakokinetykę propofolu u królików (zgoda nr 11/2009)
- II. Interakcje propofolu z wybranymi lekami miejscowo znieczulającymi:
  1. Wpływ propofolu na metabolizm lidokainy (zgoda nr 55/2011)
  2. Wpływ propofolu na metabolizm bupiwakainy (zgoda nr 23/2010)

Do badań zakwalifikowano 3 grupy królików rasy *Nowozelandzkiej białej* obu płci liczące od 8 do 10 dorosłych zwierząt:

1. Wpływ godziny podania na farmakokinetykę propofolu u królików (n=9)
2. Wpływ propofolu na metabolizm lidokainy (etap I n=10, etap II n=8)
3. Wpływ propofolu na metabolizm bupiwakainy (etap I i II n=10)



# 1. WPLYW GODZINY PODANIA NA FARMAKOKINETYKĘ PROPOFOLU U KRÓLIKÓW

## 1.1. Program badań

Do badania zakwalifikowano 9 królików rasy *Nowozelandzkiej białej* obu płci, które podzielono w sposób losowy na trzy grupy.

Przed rozpoczęciem badania zwierzęta przez 3 tygodnie adaptowano do warunków, w których przez 12 godzin świeciło sztuczne światło i przez 12 godzin panowała ciemność. Badanie przeprowadzono w układzie krzyżowym w trzech etapach z dwutygodniowymi odstępami (tabela 30). W okresie 24 h przed podaniem leku zwierzęta były głodzone i miały nieograniczony dostęp do wody. W każdym z etapów badania królikom w 8-godzinnych odstępach czasu podawano propofol do żyły brzeżnej ucha w dawce 5 mg/kg masy ciała. Propofol podawano królikom w postaci roztworu preparatu *Plofed*<sup>®</sup> 1% z glukozą 5% w stosunku 1: 4 za pomocą pompy infuzyjnej *Perfusor*<sup>®</sup> *Space* firmy *B.Braun* z szybkością wlewu 99 ml/h. W trakcie eksperymentu u zwierząt monitorowano tętno oraz saturację krwi za pomocą pulsoksymetru oraz podawano tlen w sposób ciągły przez maskę twarzową z szybkością przepływu 3 l/min. Próbkę krwi zostały pobrane w następujących punktach czasowych: 5' i 10' wlewu, stop wlewu, 3', 5', 10', 15' i 30' po zakończeniu wlewu. Charakterystykę królików oraz stosowane dawki leku zamieszczono w tabelach 31 – 33.

Pobraną krew natychmiast wirowano przez 10 min (3000 obr/min) w temp 4°C. Oddzielone osocze przechowywano w temperaturze 4°C i wykonywano analizę za pomocą wysokosprawnej chromatografii ciekowej HPLC w ciągu 24 godzin od pobrania.

## 1.2. Metodyka oznaczania propofolu w osoczu krwi królików

W badaniu wykorzystano metodę oznaczania propofolu w pełnej krwi opisaną przez Plummera w 1987r.<sup>139</sup>

Propofol poddano ekstrakcji do fazy organicznej (cykloheksan), którą następnie odparowano, a suchą pozostałość rozpuszczono w roztworze fazy nośnej i oznaczono

przy użyciu chromatografu cieczowego HPLC. Przed odparowaniem, do próby dodano roztwór TMAH w celu zabezpieczenia przed utratą propofolu podczas ogrzewania.

### 1.2.1. Aparatura

- Wysokosprawny chromatograf cieczowy 1200 Series *Agilent Technologies* LC system składający się z pompy binarnej, odgazowywacza termostowanego autosamplera i komory kolumny z detektorem fluorescencyjnym
- Kolumna chromatograficzna : *Waters XTerra* RP 18 (4,6x 150 mm; 3,5µm)
- Szklany zestaw do sączenia roztworów do celów HPLC firmy *Sartorius*
- Wirówka SIGMA 3K12 firmy *Sigma Laboratory Centrifuges*
- Wytrząsarka VXR VASIC IKA Vibrax firmy *IKA – Werke GmbH & Co. KG*
- Zagęszczarka do odparowywania próbek biologicznych RapidVap N2/48 Evaporation Systems model 7910015 firmy *Labconco*
- Zestaw pipet nastawnych LABMATE firmy *PZ HTL S.A. (High Tech Lab)*
- Waga analityczna BP2215 firmy *Sartorius*
- Pehametr cyfrowy Accumet model 15 firmy *Fisher Scientific*
- Probówki wirówkowe typu Eppendorfa o poj. 1,5 ml
- Probówki heparynizowane o poj. 5 ml
- Szkło laboratoryjne

### 1.2.2. Odczynniki

- acetonitryl, do celów HPLC, (seria I533491015 *Merck*)
- cykloheksan do celów HPLC, (seria I456627841 *Merck*)
- kwas trifluorooctowy, (seria S65133129 *Sigma-Aldrich*)
- metanol do celów HPLC, ( seria 1506218942 *Merck*)
- wodorofosforan sodu ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ), (seria 413791 *Sigma-Aldrich*)
- tymol (5-metylo-2-izopropylfenol), (seria 078K0024 *Sigma-Aldrich*)
- TMAH (wodorotlenek tetrametyloamoniowy) - 25% roztwór w metanolu, (seria 06912EE348 *Sigma-Aldrich*)
- 2,6-diizopropylfenol (seria 08931MD-358 *Aldrich Chemistry*)
- 2-propanol do celów HPLC, (seria I084840 *Merck*)

- Woda ultra czysta oczyszczana w systemie typu SMART-Simplicity firmy *Millipore*
- Plofed 1% (Propofolum), emulsja do wstrzykiwań 10 mg/ml, (seria 05DZ0408WZF *Polfa S.A.*)
- Natrium Chloratum 0,9% (Natrii chloridum), roztwór do infuzji 9 mg/ml, (seria 0810234 *Fresenius Kabi Polska*)
- Injectio Glucosi 5%, roztwór do wlewu dożylnego 50 mg/ml, (seria 15DE130A1 *Baxter Terpol*)

Warunki przechowywania odczynników:

- wszystkie odczynniki przechowywano w oryginalnych opakowaniach
- suche substancje szczelnie zamknięte bez dostępu światła i wilgoci
- rozpuszczalniki organiczne w ciemnych szklanych butlach, bez dostępu światła, w temperaturze pokojowej

### 1.2.3. Przygotowanie roztworów pomocniczych

- Roztwór podstawowy propofolu o stężeniu 1 mg/ml - przygotowano 100 ml roztworu propofolu w acetonitrylu, który przechowywano w temperaturze 4<sup>0</sup>C.
- Roztwór wzorca wewnętrznego – tymolu o stężeniu 1 mg/ml – przygotowano 100 ml roztworu tymolu w metanolu o stężeniu 1 mg/ml, który przechowywano w temperaturze 4<sup>0</sup>C.
- Bufor fosforanowy o pH 4,4 - przygotowano przez rozpuszczenie 13,6g diwodorofosforanu sodu w 1l wody.
- Roztwór TMAH - przygotowano przez zmieszanie 1,5 ml TMAH (25% roztwór w metanolu) i 18,5 ml 2-propanolu.

### 1.2.4. Przygotowanie próbek osocza krwi królików

Do 1 ml osocza krwi królików dodano 20µl roztworu wzorca wewnętrznego (tymolu) o stężeniu 0,1 mg/ml, 0,1 ml acetonitrylu, 1 ml buforu fosforanowego i 5 ml cykloheksanu. Mieszaninę wytrząsano przez 15 minut na wytrząsarce (1500 rpm), a następnie wirowano przez 5 minut (1200 g; 20<sup>0</sup>C). Po odwirowaniu, warstwę cykloheksanu (4 ml) przenoszono do czystej probówki i dodawano 50 µl roztworu

TMAH celem zabezpieczenia propofolu podczas ogrzewania. Następnie odparowano warstwę organiczną w temperaturze 40°C w strumieniu azotu, a suchą pozostałość rozpuszczano w 200 µl fazy nośnej.

### 1.2.5. Wykonanie krzywej wzorcowej

Krzywa kalibracji została wyznaczona dla następujących stężeń propofolu w osoczku: 0,025; 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 0,7; 1,0; 1,5 i 2 µg/ml. Punkty do krzywej przygotowywano każdorazowo dodając 0,1 ml roztworu propofolu o odpowiednim stężeniu oraz 20 µl roztworu wzorca wewnętrznego (tymol o stęż. 0,1 mg/ml w metanolu) do 0,9 ml osocza. Przygotowane próbki poddawano następnie ekstrakcji według procedury opisanej w punkcie 1.2.4.

### 1.2.6. Warunki analityczne

Tabela 9

<b>Kolumna</b>	XTerra RP 18; 3,5 µm; 4,6 x 150 mm
<b>Temperatura kolumny</b>	20°C
<b>Faza nośna</b>	Acetonitryl : woda (60 : 40), pH = 2,3 osiągnane przez dodatek kwasu trifluorooctowego
<b>Szybkość przepływu fazy</b>	1 ml/min
<b>Ciśnienie</b>	75 barów
<b>Detektor</b>	Fluorescencyjny
<b>Długość fali wzbudzenia i emisji</b>	$\lambda = 276 \text{ nm}; \lambda = 310 \text{ nm}$
<b>Objętość nastrzyku</b>	20 µl
<b>Metoda rozdziału</b>	Izokratyczna
<b>Czas analizy</b>	10 min

Przykładowy chromatogram propofolu w osoczku krwi królika przedstawiono na rycinie 11.

### 1.3. Walidacja metody oznaczania propofolu

Oznaczenie stężeń propofolu w osoczu krwi królików w analizie chronofarmakokinetycznej wykonano w Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

W badaniu wykorzystano metodę opracowaną przez Plummera w 1987 roku.<sup>139</sup>

W celu walidacji metody określono specyficzność, liniowość, precyzję i dokładność.

#### 1.3.1. Specyficzność

Specyficzność metody określono na podstawie porównania chromatogramu dla nieobciążonych próbek osocza i krwi z próbkami zawierającymi propofol i tymol. W oparciu o wyniki analizy nie stwierdzono interferencji sygnałów propofolu i tymolu z żadnym z sygnałów składników matrycy (ryciny 8 – 9).

#### 1.3.2. Liniowość i LLOQ

Liniowość jest to zakres stężeń badanej substancji, który jest wprost proporcjonalny do otrzymanych wartości sygnału pomiarowego. Miarą liniowości jest współczynnik korelacji  $r$ , który określa stopień w jakim wielkość sygnału pomiarowego jest zgodna z prostą regresji.<sup>140</sup>

Do przygotowania krzywej kalibracyjnej przygotowano następujące próby: próbę ślepa, próbę zerową, LLOQ = 0,025  $\mu\text{g/ml}$  oraz 8 stężeń wyższych od LLOQ: 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 0,7; 1,0; 1,5 i 2,0  $\mu\text{g/ml}$ .

Równanie wyznaczonej średniej krzywej kalibracyjnej dla propofolu w osoczu królików wyniosło (rycina 10):

$$y = 0,3712x - 0,0083$$

$$r = 0,997$$

$x$  – stężenie propofolu [ $\text{ng/ml}$ ]

$y$  – stosunek pola powierzchni pików propofolu do pola powierzchni pików tymolu

$r$  – współczynnik korelacji

### 1.3.3. Precyzja

Precyzja metody określa stopień zgodności pomiędzy poszczególnymi wynikami analiz tej samej próbki, uzyskanymi tą samą metodą przy wielokrotnym jej oznaczaniu.<sup>141</sup>

Wartość współczynnika zmienności dla oznaczeń propofolu nie przekroczyła 15%.

### 1.3.4. Dokładność

Dokładność metody jest procentowym odchyleniem wartości średniej stężeń oznaczonych od stężenia teoretycznego.

Dokładność może być określona jako błąd bezwzględny lub względny (%). Dopuszczalne odchylenia to  $\pm 15\%$ .<sup>141</sup>

Dla metody oznaczania propofolu w osoczu krwi królika średnia wartość mierzona stężeń mieściła się w zakresie  $\pm 15\%$  wartości nominalnej.

### 1.3.5. Odzysk

Odzysk określany jest na podstawie porównania wartości sygnału pomiarowego substancji badanej po ekstrakcji z wzorcem standardu. Odzysk powinien być stały, dokładny i powtarzalny.<sup>141</sup>

W zastosowanej metodzie analitycznej odzysk propofolu wynosił dla następujących stężeń: 0,1 ng/ml; 4,0 ng/ml i 10,0 ng/ml odpowiednio: 72,0%, 81,8% i 83,5%.

### 1.3.6. Stabilność

Stabilność badanej substancji w materiale biologicznym w warunkach przechowywania określonych dla danej metody powinna mieścić się w przedziale 85 – 115 % w porównaniu z odpowiednim roztworem odniesienia.<sup>141</sup>

---

W dostępnych publikacjach można odnaleźć liczne doniesienia na temat odpowiedniego przechowywania propofolu w celu zapewnienia optymalnego stężenia w oznaczanej

próbce. Według zastosowanej metody Plummera, propofol może być przechowywany w postaci próbek pełnej krwi w temperaturze 4°C do 12 tygodni.<sup>139</sup> Jednocześnie należy unikać zamrażania próbek, gdyż temperatury poniżej 0°C powodują straty oznaczanej substancji. W pracy Dawidowicza i wsp. zaobserwowano jednak znaczące straty propofolu w próbkach pełnej krwi i mniejsze w próbkach osocza przechowywanych 24 dni w temperaturze 4°C.<sup>142</sup> Może być to wynikiem wpływu elementów morfotycznych krwi na stabilność leku. Potwierdził to Shou-Zen i wsp. zalecając odwirowanie próbek krwi natychmiast po pobraniu.<sup>143</sup> Badania przeprowadzone w Katedrze i Zakładzie Farmacji Klinicznej i Biofarmacji Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu potwierdziły stabilność propofolu w próbkach osocza o początkowym stężeniu 0,44; 3,05 i 8,93 µg/mL przechowywanych w temperaturze 4°C aż do 60 dni z wartościami stabilności odpowiednio: 96,4; 99,3 oraz 99,1 %.<sup>144</sup>

W przeprowadzonym badaniu dotyczącym wpływu godziny podania na farmakokinetykę propofolu u królików, pobraną krew natychmiast wirowano, a osocze przechowywano w temperaturze 4°C a następnie oznaczano w ciągu 24 godzin od podania.

## 2. INTERAKCJE PROPOFOLU Z WYBRANYMI LEKAMI MIEJSCOWO ZNIECZULAJĄCYMI

### 2.1. Wpływ propofolu na metabolizm lidokainy

#### 2.1.2. Program badań

Badania prowadzono dwuetapowo. Do pierwszego etapu badań zakwalifikowano grupę 10 królików rasy *Nowozelandzkiej białej* obu płci, w drugim etapie brało udział 8 osobników.

W pierwszym etapie zwierzętom podano doustnie lidokainę (*Lignocainum hydrochloricum 2% Polfa Warszawa*) w dawce 3 mg/kg masy ciała i pobrano próbki krwi w następujących punktach czasowych: 1, 5, 10, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180 oraz 240 minut po podaniu leku. Po każdym pobraniu krwi, objętość płynów ustrojowych uzupełniano podając dożylnie 0,9% roztwór chlorku sodu.

W drugim etapie podanie lidokainy zwierzętom było poprzedzone dwukrotnym podaniem propofolu (*Plofed<sup>®</sup>*) tj. 24 godziny i 15 minut przed podaniem lidokainy. Propofol podano we wlewie dożylnym w dawce 5 mg/kg m.c w postaci roztworu z 5% glukozą w stosunku 1 : 4 za pomocą pompy infuzyjnej *Kwapisz Duet 20/50*, z szybkością wlewu 99 ml/h. Czasy pobierania próbek były identyczne jak w etapie pierwszym.

Charakterystykę królików oraz dawki leków przedstawiono w tabelach 34 – 35.

W planowaniu badania wykorzystano schemat podania lidokainy (dawka, droga podania) oraz punkty czasowe pobierania krwi przedstawione w pracy doktorskiej Brzezińskiego z 2008r.<sup>145</sup>

#### 2.1.3. Metodyka oznaczania lidokainy

W celu określenia stężeń lidokainy w osoczu krwi królików zastosowano metodę wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją UV-VIS.

Krew do badań pobierana była z żyły brzeżnej ucha królików w objętości 4 ml do probówek z heparyną. Następnie krew wirowano 10 minut z szybkością 4500 obr/min



w temperaturze 4°C, oddzielono osocze i przenoszono je do polipropylenowych probówek typu Eppendorf. Probówki zamrażano i przechowywano w temp. -30°C i rozmrażano w temperaturze pokojowej tuż przed wykonywaniem analizy.

### 2.1.3.1. Aparatura

- Wysokosprawny chromatograf cieczowy HPLC Waters 2695 z autosamplerem sprzężony z komputerem i detektorem UV model Waters 2487 Dual  $\lambda$  Absorbance Detector (HPLC/UV)
- Kolumna: Merck LiChroCART®, 250-4,6; wypełnienie Nucleosil 100-5 C18
- Szklany zestaw do sączenia roztworów do celów HPLC firmy *Sartorius*
- Wirówka SIGMA 3K12 firmy *Sigma Laboratory Centrifuges*
- Wyrząsarka VXR VASIC IKA Vibrax firmy *IKA – Werke GmbH & Co. KG*
- Zagęszczarka do odparowywania próbek biologicznych RapidVap N2/48 Evaporation Systems model 7910015 firmy *Labconco*
- Zestaw pipet nastawnych LABMATE firmy *PZ HTL S.A. (High Tech Lab)*
- Waga analityczna BP2215 firmy *Sartorius*
- Pehametr cyfrowy Accumet model 15 firmy *Fisher Scientific*
- Probówki wirówkowe typu Eppendorfa o poj. 1,5 ml
- Probówki heparynizowane o poj. 5 ml
- Szkło laboratoryjne

### 2.1.3.2. Odczynniki i substancje wzorcowe do oznaczeń

- Chlorowoderek lidokainy (Lidocaini hydrochloridum), substancja sucha, (seria 68H0139 *Sigma-Aldrich*)
- Bupiwakainy chlorowoderek (Bupivacaini chydrochloridum), substancja sucha, (seria 46H1144 *Sigma-Aldrich*)
- Osocze królicze do diagnostyki *In vitro*, (seria 22510001 *Biomed*)
- Wodorofosforan potasu (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) substancja sucha, (seria 39H0087 *Sigma-Aldrich*)
- Kwas ortofosforowy 85% (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), (seria K35991173618 *Merck*)
- Eter tert–butylowometylowy do chromatografii, (seria 1520145005 *Merck*)

- Acetonitryl izokratyczny do chromatografii cieczowej, (1533491015 *Merck*)
- Metanol do chromatografii cieczowej, (seria 1506218942 *Merck*)
- Woda ultra czysta oczyszczana w systemie typu SMART-Simplicity firmy *Millipore*
- Lignocainum hydrochloricum 2% (*Lidocaini hydrochloridum*), roztwór do wstrzykiwań 20 mg/ml, (seria 01BT0707 *Polfa Warszawa*)
- Plofed 1% (*Propofolum*), emulsja do wstrzykiwań 10 mg/ml, (seria 05DZ0408 *WZF Polfa S.A.*)
- Natrium Chloratum 0,9% (*Natrii chloridum*), roztwór do infuzji 9 mg/ml, (seria 0810234 *Fresenius Kabi Polska*)
- Injectio Glucosi 5%, roztwór do wlewu dożylnego 50 mg/ml, (15DE130A1 *Baxter Terpol*)
- Heparinum (heparyna), 25000 j.m./5ml, (seria 01BI0408 *WZF Polfa S.A.*)

Wszystkie odczynniki przechowywane były w oryginalnych opakowaniach. Substancje suche przechowywano w szczelnie zamkniętych pojemnikach, w szafkach bez dostępu światła i wilgoci. Rozpuszczalniki organiczne przechowywano w ciemnych butlach szklanych w temperaturze pokojowej, bez dostępu światła.

### 2.1.3.3. Przygotowanie roztworów pomocniczych

- Roztwór podstawowy lidokainy (roztwór A) o stężeniu 1 mg/ml przygotowano rozpuszczając 100 mg chlorowodorku lidokainy w 100 ml wody ultra czystej.
- Roztwór lidokainy o stężeniu 0,01 mg/ml (roztwór B) otrzymano przez uzupełnienie 1 ml roztworu A wodą ultraczystą do 100 ml.
- Roztwory robocze lidokainy o stężeniach 10, 30, 50, 100, 250, 400, 500, 700 i 1000 ng/ml przygotowano przez rozcieńczanie odpowiednich ilości roztworu B wodą ultraczystą w kolbach 10 ml.
- Roztwór wzorca wewnętrznego – bupiwakainy o stężeniu 50 µg/ml otrzymano przez rozpuszczenie 5 mg chlorowodorku bupiwakainy w 100 ml wody ultraczystej.
- Roztwory do krzywych kalibracyjnych oraz roztwory kontrolne (QC) o odpowiednich stężeniach przygotowano przy użyciu roztworów roboczych lidokainy.
- Próby ślepe stanowiła woda ultra czysta o objętości 130 µl.

#### 2.1.3.4. Przygotowanie próbek osocza krwi królików

Do 1 ml osocza dodano 100 µl wzorca wewnętrznego – bupiwakainy o stężeniu 50 µg/ml i wytrząsano przez 3 minuty (1500 rpm). Następnie dodano 3,6 ml eteru tert-butylo-metylowego i ponownie wytrząsano 3 minuty (1500 rpm). Próbki wirowano 10 min. (4500 obr/min) w temp. 4°C. Po odwirowaniu zebrano 3,5 ml nadsącza, który przeniesiono do czystych probówek i odparowano pod strumieniem azotu w temp. 40°C. Suchą pozostałość rozpuszczono w 130 µl fazy ruchomej, wytrząsano 3 minuty (1500rpm) i wirowano 5 minut (4500 obr/min, 4°C). Tak przygotowana próbkę przenoszono do insertu i poddawano analizie chromatograficznej.

#### 2.1.3.5. Wykonanie krzywej wzorcowej

Do 1 ml roztworu roboczego lidokainy o znanym stężeniu (10, 30, 50, 100, 250, 400, 500 700, 1000 ng/ml) dodano 100 µl roztworu wzorca wewnętrznego – bupiwakainy 50µg/ml. Następnie postępowano zgodnie z procedurą opisaną w rozdziale 1.2.6.

#### 2.1.3.6. Warunki analityczne

Tabela 10

<b>Kolumna</b>	Merck LiChroCART <sup>®</sup> , 2500-4,6; wypełnienie Nucleosil 100-5 C18
<b>Faza ruchoma</b>	0,01 mol/l KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> pH 2,1-2,2; acetonitryl w stosunku 78:22
<b>Długość fali</b>	λ=205 nm
<b>Szybkość przepływu</b>	1 ml/min
<b>Temperatura pracy detektora</b>	30°C
<b>Czas analizy</b>	18 min, czas retencji lidokainy 6 min
<b>Metoda rozdzielania</b>	Izokratyczna

Przykładowy chromatogram lidokainy w osoczu krwi królika przedstawiono na rycinie 15.

## 2.2. Wpływ propofolu na metabolizm bupiwakainy

### 2.2.1. Program badań

Badanie przeprowadzono dwuetapowo w grupie królików rasy *Nowozelandzkiej białej* (w pierwszym etapie brało udział 10 osobników, w drugim 9). W celu uspokojenia zwierząt i umożliwienia podania bupiwakainy w okolicę nerwu kulszowego u zwierząt zastosowano premedykację mieszanką ketaminy (*Bioketan*<sup>®</sup>) w dawce 5 mg/kg m.c. i ksylazyny (*Xylavet*<sup>®</sup>) w dawce 3 mg/kg m.c.

W etapie pierwszym w okolicę nerwu kulszowego podano roztwór bupiwakainy (*Marcaine*) w dawce 1 mg/kg m.c. Znieczulenie nerwu wykonano przy pomocy stymulatora nerwów obwodowych - *Stimuplex* firmy B.Braun. Próbkę krwi pobierano z żyły brzeżnej ucha w odpowiednich punktach czasowych po podaniu bupiwakainy: 1', 3', 5', 10', 15', 30', 45', 60', 120', 180', 240', 300' oraz 360'. Po każdym pobraniu krwi królikom uzupełniano objętość płynów ustrojowych 0,9% roztworem NaCl.

W drugim etapie, 15 minut po podaniu bupiwakainy królikom podano propofol (*Plofed*), w dawce 5 mg/kg masy ciała, w postaci roztworu z 5% glukozą w stosunku 1 : 4. Propofol podano w postaci wlewu przy pomocy pompy infuzyjnej *Kwapisz Duet 20/50* z szybkością wlewu 99 ml/h. Odstępy czasowe, w których pobierano próbki krwi były analogiczne jak w etapie pierwszym.

Charakterystykę królików oraz dawki leków zestawiono w tabelach 36 – 37.

### 2.2.2. Metodyka oznaczania bupiwakainy i jej metabolitu PPX

W badaniu do oznaczenia stężeń bupiwakainy i jej głównego metabolitu PPX wykorzystano metodę wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detektorem UV.

Krew do badań pobierana była z żyły brzeżnej ucha królików w objętości 4 ml do probówek z heparyną. Następnie krew wirowano przez 10 minut z szybkością 4500 obr/min w temperaturze 4°C, oddzielono osocze i przenoszono je do polipropylenowych probówek typu Eppendorf. Probówki zamrażano i przechowywano w temp. -30°C, tuż przed wykonaniem analizy rozmrażano je w temperaturze pokojowej.

### 2.2.2.1. Aparatura

- Wysokosprawny chromatograf cieczowy HPLC Waters 2695 z autosamplerem sprzężony z komputerem i detektorem UV model Waters 2487 Dual  $\lambda$  Absorbance Detector (HPLC/UV)
- Kolumna: Merck LiChroCART®, 250-4,6; wypełnienie Nucleosil 100-5 C18
- Szklany zestaw do sączenia roztworów do celów HPLC firmy *Sartorius*
- Wirówka SIGMA 3K12 firmy *Sigma Laboratory Centrifuges*
- Wyrząsarka VXR VASIC IKA Vibrax firmy *IKA – Werke GmbH & Co. KG*
- Zagęszczarka do odparowywania próbek biologicznych RapidVap N2/48 Evaporation Systems model 7910015 firmy *Labconco*
- Zestaw pipet nastawnych LABMATE firmy *PZ HTL S.A. (High Tech Lab)*
- Waga analityczna BP2215 firmy *Sartorius*
- Pehametr cyfrowy Accumet model 15 firmy *Fisher Scientific*
- Probówki wirówkowe typu Eppendorfa o poj. 1,5 ml
- Probówki heparynizowane o poj. 5 ml
- Szkło laboratoryjne

### 2.2.2.2. Odczynniki i substancje wzorcowe do oznaczeń

- Bupiwakainy chlorowodorek (Bupivacaini hydrochloridum), substancja sucha, (seria 46H1144 *Sigma-Aldrich*)
- N-Desbutyl Bupivacaine (PPX), 2,5 mg,(seria 15883202 *TRC- Canada*)
- Chlorowodorek lidokainy (Lidocaini hydrochloridum), substancja sucha, (seria 68H0139 *Sigma-Aldrich*)
- Osocze królicze do diagnostyki *In vitro*,(seria 22510001 *Biomed*)
- Wodorofosforan potasu ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) substancja sucha, (seria 39H0087 *Sigma-Aldrich*)
- Kwas ortofosforowy 85% ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), (seria K35991173618 *Merck*)
- Eter tert–butylowometylowy do chromatografii, (seria I520145005 *Merck*)
- Acetonitryl izokratyczny do chromatografii cieczowej, (seria I533491015 *Merck*)
- Metanol do chromatografii cieczowej, (seria I506218942 *Merck*)

- Woda ultra czysta oczyszczana w systemie typu SMART-Simplicity firmy *Millipore*
- Marcaine 0,5% (Bupivacaini hydrochloridum), roztwór do wstrzykiwań 5 mg/ml, 20 ml, (seria 629368 *AstraZeneca AB*)
- Plofed 1% (Propofolum), emulsja do wstrzykiwań 10 mg/ml, (seria 05DZ0408 *WZF Polfa S.A.*)
- Bioketan (Ketaminum), roztwór do wstrzykiwań 100 mg/ml, 20 ml, (seria 0810080 *Vetoquinol Biowet*)
- Xylavet 2% (ksylazyna), roztwór do wstrzykiwań 20 mg/ml, 30 ml, (seria 0804125 *ScanVet Poland*)
- Natrium Chloratum 0,9% (Natrii chloridum), roztwór do infuzji 9 mg/ml, (seria 0810234 *Fresenius Kabi Polska*)
- Injectio Glucosi 5%, roztwór do wlewu dożylnego 50 mg/ml, (seria 15DE130A1 *Baxter Terpol*)
- Heparinum (heparyna), 25000 j.m./5ml, (seria 01BI0408 *WZF Polfa S.A.*)

Wszystkie odczynniki przechowywane były w oryginalnych opakowaniach. Substancje suche przechowywano w szczelnie zamkniętych pojemnikach, w szafkach bez dostępu światła i wilgoci. Rozpuszczalniki organiczne przechowywano w ciemnych butlach szklanych w temperaturze pokojowej, bez dostępu światła.

### 2.2.2.3. Przygotowanie roztworów pomocniczych

- Roztwór podstawowy bupiwakainy o stężeniu 1000  $\mu\text{g/ml}$  (roztwór A) przygotowano rozpuszczając 100 mg chlorowodoru bupiwakainy w 100 ml wody ultraczystej
- Roztwór bupiwakainy o stężeniu 100  $\mu\text{g/ml}$  (roztwór B) uzyskano przez przeniesienie 1 ml roztworu A do kolbki i uzupełnienie do 10 ml wodą ultraczystą.
- Roztwór bupiwakainy o stężeniu 10  $\mu\text{g/ml}$  (roztwór C) otrzymano przez przeniesienie 1 ml roztworu B do kolbki i uzupełnienie do 10 ml wodą ultraczystą.
- Roztwór podstawowy metabolitu bupiwakainy – PPX o stężeniu 50  $\mu\text{g/ml}$  otrzymano przez rozpuszczenie 2,5 mg suchej substancji w 50 ml wody ultraczystej.

- Podstawowy roztwór wzorca wewnętrznego (roztwór A wzorca) – lidokainy, o stężeniu 1 mg/ml przygotowano przez rozpuszczenie 100 mg chlorowodoru lidokainy w 100 ml wody ultraczystej.
- Roztwór wzorca wewnętrznego o stężeniu 6 µg/ml (roztwór B wzorca) otrzymano przez uzupełnienie 60 µl roztworu A wzorca do 10 ml wodą ultraczystą.
- Przygotowanie roboczych roztworów bupiwakainy i PPX do krzywych kalibracyjnych oraz roztworów kontrolnych (QC) o odpowiednich stężeniach opisano w tabelach 11 – 12.

Tabela 11

## Przygotowanie roztworów roboczych bupiwakainy

Stężenie roztworu roboczego [ng/ml]	Objętość i rodzaj roztworu podstawowego	Objętość wody ultraczystej
<b>50</b>	50 µl roztworu C	uzupełniono do 10 ml
<b>250</b>	250 µl roztworu C	uzupełniono do 10 ml
<b>500</b>	500 µl roztworu C	uzupełniono do 10 ml
<b>750</b>	750 µl roztworu C	uzupełniono do 10 ml
<b>1000</b>	1000 µl roztworu C	uzupełniono do 10 ml
<b>1500</b>	150 µl roztworu B	uzupełniono do 10 ml
<b>2500</b>	250 µl roztworu B	uzupełniono do 10 ml
<b>4000</b>	400 µl roztworu B	uzupełniono do 10 ml

Tabela 12

## Przygotowanie roztworów roboczych PPX

Stężenie roztworu roboczego [ng/ml]	Objętość wyjściowego roztworu PPX [50µg/ml]	Objętość wody ultraczystej
<b>50</b>	10 µl	uzupełniono do 10 ml
<b>150</b>	30 µl	uzupełniono do 10 ml
<b>300</b>	60 µl	uzupełniono do 10 ml
<b>500</b>	100 µl	uzupełniono do 10 ml
<b>750</b>	150 µl	uzupełniono do 10 ml
<b>1000</b>	200 µl	uzupełniono do 10 ml
<b>1500</b>	300 µl	uzupełniono do 10 ml
<b>2500</b>	500 µl	uzupełniono do 10 ml
<b>3500</b>	700 µl	uzupełniono do 10 ml

#### 2.2.2.4. Przygotowanie próbek osocza krwi królików

Do 475  $\mu$ l osocza dodano 25  $\mu$ l wzorca wewnętrznego i wytrząsano przez 3 minuty. Następnie dodano 120  $\mu$ l acetonitrylu i 3,2 ml eteru tert-butylo-metylowego, całość ponownie wytrząsano 3 minuty (1500 rpm) i wirowano 5 minut z prędkością 4500 obr/min, 4°C. Zebrano 3 ml nadsącza, przeniesiono do czystej probówki i odparowano do sucha w strumieniu azotu w temp. 40°C. Zawartość probówki po odparowaniu rozpuszczono w 130  $\mu$ l fazy ruchomej, wytrząsano 3 minuty (1500 rpm) i wirowano 5 minut (4500 obr/min, 4°C). Przygotowane próbki przeniesiono do insertów i poddano analizie chromatograficznej.

#### 2.2.2.5. Wykonanie krzywej wzorcowej

Próbki do krzywej wzorcowej przygotowano przez dodanie do 375  $\mu$ l osocza 100  $\mu$ l roztworu roboczego bupiwakainy lub PPX o odpowiednim stężeniu oraz 25  $\mu$ l wzorca wewnętrznego.

Następnie postępowano zgodnie z procedurą opisaną w rozdziale 3.2.4.

Stężenia do sporządzenia krzywej kalibracyjnej bupiwakainy: próba ślepa, próba zerowa, 10, 50, 100, 150, 200, 300, 500, 800 ng/ml.

Stężenia do sporządzenia krzywej kalibracyjnej PPX: próba ślepa, próba zerowa, 10, 30, 60, 100, 150, 200, 300, 500, 700 ng/ml.

#### 2.2.2.6. Warunki analityczne

Tabela 13

<b>Kolumna</b>	Waters XBridge™ C18 5 $\mu$ m 4,6x150mm
<b>Faza ruchoma</b>	0,01 mol/l KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> pH=2,1-2,2 : acetonitryl w stosunku 83:17
<b>Długość fali</b>	$\lambda$ =205 nm
<b>Szybkość przepływu</b>	1 ml/min
<b>Temperatura pracy detektora</b>	30°C
<b>Czas analizy</b>	22 min
<b>Metoda rozdzielania</b>	Izokratyczna



Przykładowy chromatogram bupiwakainy i PPX w osoczu krwi królika przedstawiono na rycinie 19 i 21.

## 2.3. Walidacja metod oznaczania lidokainy, bupiwakainy i PPX

W celu zwalidowania stosowanych metod analitycznych określono:

- Selektywność
- Liniowość
- Precyzję
- Dokładność
- Granicę detekcji (LOD)
- Dolną granicę oznaczalności (LLOQ)
- Wydajność ekstrakcji – odzysk
- Stabilność – test zamrażania i rozmrażania

### 2.3.1. Selektywność

Selektywność jest to zdolność metody do odróżnienia i oznaczenia jednego analitu w obecności innych związków, w złożonej próbce rzeczywistej, bez interferencji składników towarzyszących na sygnał analitu.<sup>141</sup>

W oparciu o wyniki analizy nie stwierdzono interferencji sygnałów lidokainy, bupiwakainy oraz PPX z sygnałami odpowiadającymi składnikom matrycy w warunkach eksperymentu (ryciny 12 – 13, 16 – 17).

### 2.3.2. Liniowość

Liniowość jest to zakres metody, w którym uzyskane wartości sygnału pomiarowego są wprost proporcjonalne do stężeń substancji. Zależność ta przedstawiana jest graficznie za pomocą krzywej kalibracyjnej opisywanej równaniem:

$$y = bx + a$$

x – stężenie

y – odpowiedź

b – nachylenie (powinno być bliskie 1)

a – rzędna punktu przecięcia prostej z osią y (bliska zera)

r – współczynnik korelacji powinien być większy niż 0,99<sup>141</sup>

W celu oceny liniowości testowano 6-8 stężeń w sześciu niezależnych oznaczeniach. Współczynnik korelacji  $r$  wynosił dla lidokainy  $r = 0,995$ , dla bupiwakainy  $r = 0,994$  a dla PPX  $r = 0,998$  (ryciny 22 – 24).

### 2.3.3. Precyzja

Precyzja metody określa stopień zgodności między poszczególnymi wynikami analiz powtarzanymi wielokrotnie dla tej samej próbki.

Miarą precyzji jest odchylenie standardowe (SD), stosuje się również współczynnik zmienności wyrażany w procentach (CV%):

$$\frac{SD}{\bar{x}}$$

gdzie:

SD – odchylenie standardowe

$\bar{x}$  - wartość średnia pomiarów

Precyzję można podzielić na:

Powtarzalność – precyzja otrzymana w identycznych warunkach operacyjnych w krótkim okresie czasu.

Precyzję pośrednią – jest to precyzja między seriami, jest wyrażeniem zmienności wewnątrzlaboratoryjnej. Pomiar wykonywany w różnych dniach i/lub przez różnych analityków i/lub przy użyciu różnej aparatury.

Odtwarzalność – określa precyzję wyników otrzymanych w różnych laboratoriach.

Precyzję w tym samym dniu wyznaczono na podstawie analizy próbek trzech stężeń z zakresu krzywej standardowej dla lidokainy, bupiwakainy i PPX, po pięć oznaczeń dla danego stężenia. Wartość współczynnika zmienności nie może przekroczyć 15%.<sup>141</sup>

Tabela 14

Powtarzalność w ciągu jednego dnia dla lidokainy

$C_{\text{nominalne}}$ [ng/ml]	$C_{\text{oznaczone}}$ [ng/ml]					$C_{\text{śr}}$ [ng/ml]	SD	%CV
30	31	32	31	27	30	30,2	1,924	6,369
100	107	104	122	103	109	109,0	7,649	7,017
1000	1117	1140	1065	1165	1255	1148,4	70,091	6,103

Tabela 15

Powtarzalność w ciągu jednego dnia dla bupiwakainy

$C_{\text{nominalne}}$ [ng/ml]	$C_{\text{oznaczone}}$ [ng/ml]					$C_{\text{śr}}$ [ng/ml]	SD	%CV
20	19,978	20,084	19,083	21,256	20,450	20,170	0,788	3,907
250	252,105	253,239	253,378	255,917	245,959	252,120	3,715	1,474
700	701,131	744,150	708,218	696,157	694,885	708,908	20,385	2,876

Tabela 16

Powtarzalność w ciągu jednego dnia dla PPX

$C_{\text{nominalne}}$ [ng/ml]	$C_{\text{oznaczone}}$ [ng/ml]					$C_{\text{śr}}$ [ng/ml]	SD	%CV
20	21,597	22,821	21,731	21,455	22,610	22,043	0,626	2,841
120	123,371	125,371	122,989	124,311	126,430	124,494	1,279	1,028
600	614,454	600,902	625,107	642,202	603,888	617,311	16,867	2,732

### 2.3.4. Dokładność

Dokładność jest to stopień zgodności między wynikiem oznaczonym lub średnią z oznaczeń a prawdziwą zawartością analitu w badanej próbce. Dokładność można wyrazić jako błąd bezwzględny lub względny (%).<sup>140, 141</sup>

Zgodnie z wytycznymi FDA przeprowadzono analizę próbek dla trzech stężeń z zakresu krzywej kalibracyjnej, po pięć oznaczeń dla każdego stężenia. Średnia wartość mierzona powinna mieścić się w zakresie  $\pm 15\%$  nominalnej wartości.<sup>141</sup>

Tabela 17

## Dokładność metody dla oznaczeń stężenia lidokainy

$C_{\text{nominalne}}$ [ng/ml]	$C_{\text{oznaczone}}$ [ng/ml]					$C_{\text{sr}}$ [ng/ml]	BŁĄD WZGLĘDNY [%]
30	31	32	31	27	30	30,200	0,667
100	107	104	122	103	109	109,000	9,000
1000	1117	1140	1065	1165	1255	1148,400	14,840

Tabela 18

## Dokładność dla oznaczeń stężeń bupiwakainy

$C_{\text{nominalne}}$ [ng/ml]	$C_{\text{oznaczone}}$ [ng/ml]					$C_{\text{sr}}$ [ng/ml]	BŁĄD WZGLĘDNY [%]
20	19,978	20,084	19,083	21,256	20,450	20,170	0,851
250	252,105	253,239	253,378	255,917	245,959	252,120	0,848
700	701,131	744,150	708,218	696,157	694,885	708,908	1,273

Tabela 19

## Dokładność dla oznaczeń stężeń PPX

$C_{\text{nominalne}}$ [ng/ml]	$C_{\text{oznaczone}}$ [ng/ml]					$C_{\text{sr}}$ [ng/ml]	BŁĄD WZGLĘDNY [%]
20	21,597	22,821	21,731	21,455	22,610	22,043	10,214
120	123,371	125,371	122,989	124,311	126,430	124,494	3,745
600	614,454	600,902	625,107	642,202	603,888	617,311	2,885

### 2.3.5. Granica detekcji (LOD)

Granica detekcji (LOD ang. *limit of detection*) jest to najniższe stężenie analitu, generujące sygnał, który może być w sposób wiarygodny odróżnione od szumów linii podstawnej. Wysokość pików powinna być 2-3 – krotnie wyższa niż szumy linii podstawowej.<sup>141</sup>

Tabela 20

Granica detekcji badanych substancji

Substancja	LOD [ng/ml]
Lidokaina	9,0
Bupiwakaina	8,0
PPX	5,0

### 2.3.6. Dolna granica oznaczalności

Dolna granica oznaczalności (LLOQ ang. *lower limit of quantification*) jest to najniższe stężenie związku, które może być zmierzone z akceptowalną dokładnością i precyzją. Współczynnik zmienności (precyzja) lub odchylenie od wartości rzeczywistej (dokładność) nie powinny przekraczać 20%. Przyjmuje się, że sygnał badanej substancji powinien być 5 razy większy od szumów pochodzących z próby ślepej.<sup>141</sup>

Wartości LLOQ w badanej metodzie oznaczono na poziomie 10 ng/ml dla lidokainy, bupiwakainy oraz PPX.

### 2.3.7. Wydajność ekstrakcji - odzysk

Odzysk określa wydajność ekstrakcji i jest stosunkiem wartości sygnału pomiarowego substancji badanej, otrzymanego po procesie ekstrakcji do wzorca standardu. Odzysk powinien być stały, dokładny i powtarzalny. Badanie odzysku należy przeprowadzić dla stężenia niskiego ( $\leq 3 \times$  LLOQ), średniego i wysokiego (75-90% najwyższego stężenia z krzywej) w sześciu powtórzeniach.<sup>141</sup>

Tabela 21

## Odzysk lidokainy

C <sub>nomin</sub> [ng/ml]	Ekstrakcja	Powierzchnia piku						ŚREDNIA	ODZYSK [%]
20	przed	24385	21626	21412	21412	22105	21695	22167	<b>83,966</b>
	po	19219	17586	20012	18525	19094	17242	18613	
300	przed	302830	304459	306305	304373	292632	305030	302605	<b>83,288</b>
	po	241219	265994	251804	263982	261206	227989	252032	
800	przed	839223	835711	837881	830367	829238	825535	832993	<b>74,096</b>
	po	642555	656195	618672	622920	580438	582494	617212	

Tabela 22

## Odzysk bupiwakainy

C <sub>nomin</sub> [ng/ml]	Ekstrakcja	Powierzchnia piku						ŚREDNIA	ODZYSK [%]
30	przed	10471	8803	11069	9139	10014	8062	9593	<b>77,906</b>
	po	7192	6682	7623	7465	7952	7927	7474	
220	przed	83571	82250	79737	78808	79448	85629	81574	<b>88,280</b>
	po	69537	70005	72095	74621	70714	75109	72014	
700	przed	291911	298431	293338	288402	288944	288201	291538	<b>86,230</b>
	po	266197	251795	249058	238453	247596	255261	251393	

Tabela 23

## Odzysk PPX

C <sub>nomin</sub> [ng/ml]	Ekstrakcja	Powierzchnia piku						ŚREDNIA	ODZYSK [%]
20	przed	15535	17330	16582	16814	16303	16682	16541	<b>68,335</b>
	po	14332	7631	11958	7666	14491	11742	11303	
180	przed	150882	150604	151198	152113	151125	150822	151124	<b>62,832</b>
	po	84988	83648	82047	119297	117252	82494	94954	
600	przed	517694	520454	519019	517146	517978	520554	518807	<b>68,175</b>
	po	292131	357832	456631	281282	309281	425019	353696	

### **2.3.8. Stabilność**

Próbki pobrane do analizy i przechowywane mogą ulegać zmianom fizykochemicznym oraz biochemicznym. Ich przechowywanie może wpływać na zmiany składu. Z tego powodu pobieranie i przechowywanie próbek powinno podlegać określonym, wcześniej zbadanym procedurom.<sup>140</sup>

Próby uważa się za stabilne, jeżeli w porównaniu z roztworem odniesienia uzyskane wyniki mieszczą się w przedziale 85-115%.<sup>141</sup>

---

#### **2.3.8.1. Test zamrażania i rozmrażania**

Test zamrażania i rozmrażania określa stopień strat substancji w wyniku wielokrotnie przeprowadzanego procesu zamrażania i rozmrażania próbki. Wytyczne FDA zalecają analizę trzech próbek dla stężenia niskiego oraz trzech próbek o wysokim stężeniu. Schemat badania powinien przebiegać następująco:

- analiza próbek przed zamrożeniem
- pierwsze zamrożenie próbek w temperaturze przechowywania na 24h i całkowite rozmrożenie próbek w temperaturze pokojowej
- drugie zamrożenie próbek w temperaturze przechowywania na 12-24h i całkowite rozmrożenie w temperaturze pokojowej
- trzecie zamrożenie próbek w temperaturze przechowywania na 12-24h i rozmrożenie w temperaturze pokojowej
- przeprowadzenie analizy



Tabela 24

Ocena stabilności roztworów wzorcowych dla lidokainy na podstawie oznaczeń wykonanych przed zamrożeniem w temp.  $-30^{\circ}\text{C}$  oraz po trzecim cyklu zamrażania i rozmrażania

$C_{\text{nomin.}}$ [ng/ml]	nr próbki	$C_{\text{oznacz.}}$ przed zamrożeniem	$C_{\text{oznacz.}}$ po 3. cyklu	STABILNOŚĆ [%]
30	1	33,000	28,889	87,542
	2	32,159	31,663	98,458
	3	31,750	27,044	85,178
500	1	642,393	555,732	86,510
	2	607,475	537,589	88,496
	3	573,943	544,877	94,936

Tabela 25

Ocena stabilności roztworów wzorcowych dla bupiwakainy na podstawie oznaczeń wykonanych przed zamrożeniem w temp.  $-30^{\circ}\text{C}$  oraz po trzecim cyklu zamrażania i rozmrażania

$C_{\text{nomin.}}$ [ng/ml]	Nr próbki	$C_{\text{oznacz.}}$ przed zamrożeniem	$C_{\text{oznacz.}}$ po 3. cyklu	STABILNOŚĆ [%]
60	1	60,102	62,644	104,229
	2	59,883	55,804	93,188
	3	56,955	48,963	85,968
700	1	709,936	605,709	85,319
	2	702,731	621,565	88,450
	3	725,924	629,889	86,771

Tabela 26

Ocena stabilności roztworów wzorcowych dla PPX na podstawie oznaczeń wykonanych przed zamrożeniem w temp.  $-30^{\circ}\text{C}$  oraz po trzecim cyklu zamrażania i rozmrażania

nomin. [ng/ml]	Nr próbki	C <sub>oznacz.</sub> przed zamrożeniem	C <sub>oznacz.</sub> po 3. cyklu	STABILNOŚĆ [%]
50	1	50,175	52,682	C 104,997
	2	48,967	53,031	108,299
	3	56,179	59,156	105,298
600	1	610,935	520,184	85,146
	2	625,107	544,313	87,075
	3	600,902	512,882	85,352

### 2.3.9. Próby kontroli jakości

Próby kontroli jakości (QC) służą do monitorowania precyzji i dokładności w trakcie badania. Próby kontroli jakości przygotowuje się na początku badania dla minimum trzech stężeń z zakresu krzywej kalibracyjnej - niskiego, średniego i wysokiego. Wyniki prób są odczytywane z krzywej wzorcowej w danym dniu. Rozmieszczenie prób powinno być równomierne w sekwencji analitycznej, a wyniki ich analizy stanowią podstawę zatwierdzenia lub odrzucenia całej sekwencji analitycznej. Co najmniej 67% wyników (cztery z sześciu) nie może odbiegać o więcej niż 15% od swojej nominalnej wartości.<sup>141</sup>

Tabela 27

Wyniki analizy prób kontroli jakości (QC) dla lidokainy

C <sub>nomin</sub> [ng/ml]	C <sub>wyznaczone</sub> [ng/ml]		S	SD	%CV
30	34,275	30,818	32,547	2,444	7,511
250	244,126	255,082	249,604	7,747	3,104
700	735,971	740,059	738,015	2,891	0,392

Tabela 28

Wyniki analizy prób kontroli jakości (QC) dla bupiwakainy

$C_{\text{nomin}}$ [ng/ml]	$C_{\text{wyznaczone}}$ [ng/ml]		S	SD	%CV
20	18,180	21,352	19,766	2,243	11,347
250	229,134	236,130	232,632	4,947	2,126
700	745,272	720,300	732,786	17,658	2,410

Tabela 29

Wyniki analizy prób kontroli jakości (QC) dla PPX

$C_{\text{nomin}}$ [ng/ml]	$C_{\text{wyznaczone}}$ [ng/ml]		S	SD	%CV
30	30,495	31,896	31,196	0,991	3,176
300	308,652	291,544	300,098	12,097	4,031
600	616,237	611,512	613,875	3,341	0,544

### 3. METODYKA OBLICZEŃ FARMAKOKINETYCZNYCH

Obliczenia farmakokinetyczne dotyczące wpływu godziny podania na farmakokinetykę propofolu u królików wykonano przy użyciu programu komputerowego Microsoft Excel z zastosowaniem kinetyki bezmodelowej, natomiast do interpretacji interakcji propofolu z wybranymi lekami miejscowo znieczulającymi wykorzystano program WinNonlin.

Dla wszystkich zwierząt doświadczalnych biorących udział w badaniach wyznaczono doświadczalnie stężenie leku badanego tj. propofolu, lidokainy lub bupiwakainy wraz z jej metabolitem PPX.

Na podstawie uzyskanych wyników wyznaczono  $C_{max}$  (maksymalne stężenie) i  $t_{max}$  (czas, w którym osiągnięto stężenie maksymalne) oraz obliczono AUC (pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas), AUMC (pole pod pierwszym momentem krzywej),  $k_{el}$  (stałą terminalnej fazy eliminacji),  $t_{0,5}$  (biologiczny okres półtrwania), MRT (średni czas przebywania leku w organizmie), Cl (klirens leku) oraz Vd (objętość dystrybucji).

- AUC obliczono metodą zliczania trapezów według wzorów<sup>18, 146</sup>:

$$AUC_{cał} = AUC_t + AUC_r$$

$$AUC_t = \frac{1}{2} (C_1 t_1) + [(C_1 + C_2)(t_2 - t_1) + (C_2 + C_3)(t_3 - t_2) + \dots + (C_{n-1} + C_n)(t_n - t_{n-1})]$$

$$AUC_r = \text{---}$$

- $AUC_{cał}$  – całkowite pole powierzchni pod krzywą stężenie – czas  
 $AUC_t$  – pole powierzchni pod krzywą zmian stężenia leku w czasie od punktu 0 do ostatniego zmierzonego stężenia w czasie  
 $AUC_r$  – pole resztkowe  
 $C_t$  – wartość ostatniego zmierzonego stężenia  
 $k_{El}$  – stała szybkości eliminacji

- AUMC (pole powierzchni pod pierwszym momentem) obliczono również metodą zliczania trapezów<sup>18, 146</sup>:

$$AUMC_{(t \rightarrow \infty)} = \left\{ \frac{\sum [C_n * t_n + C_{n+1} * t_{n+1}]}{2} \right\} * (C_{n+1} - t_n)$$

- $C_n * t_n, C_{n+1} * t_{n+1}$  – wartości kolejnych iloczynów stężenia i czasu
- $t_n, t_{n+1}$  – wartości kolejnych punktów czasowych
- $C_t$  – wartość ostatniego zmierzonego stężenia w czasie t
- $AUMC_{(0 \rightarrow t)}$  – pole powierzchni pierwszego momentu w czasie od 0 do t
- $AUMC_{(t \rightarrow \infty)}$  – pole resztkowe

- Średni czas przebywania leku w organizmie (MRT- *Mean Residence Time*) obliczono ze wzoru<sup>18, 146</sup>:

$$MRT = AUMC/AUC$$

- AUMC – pole pod pierwszym momentem krzywej  $t * C = g(t)$ , mierzone w przedziale czasu od zera do nieskończoności
- AUC – pole powierzchni pod krzywą zmian stężenia leku w czasie

- Biologiczny okres półtrwania ( $t_{0,5}$ ) wyznaczono ze wzoru<sup>18, 146</sup>:

- $k_{el}$  – stała szybkości eliminacji

- Klirens (Cl) obliczono ze wzoru<sup>18, 146</sup>:

\_\_\_\_\_

D – dawka leku

AUC – pole powierzchni pod krzywą zmian stężenia leku w czasie

- Stałą eliminacji leku z ustroju ( $k_{el}$ ) wyznaczono z nachylenia prostej  $\ln C = f(t)$  utworzonej z punktów zaliczanych do terminalnej fazy eliminacji.
- Objętość dystrybucji ( $V_d$ ) obliczono ze wzoru<sup>18, 146</sup>:

\_\_\_\_\_

## 4. METODY STATYSTYCZNE

Ocenę statystyczną wyników otrzymanych w poszczególnych etapach badań przeprowadzono przy wykorzystaniu:

### I. Wpływ godziny podania na farmakokinetykę propofolu

- Test T dla dwóch zmiennych połączonych
- Dwuczynnikowa analiza wariancji
- Test najmniejszej istotnej różnicy

### II. Interakcje propofolu z wybranymi lekami miejscowo znieczulającymi

- Test Wicoxona

## 5. WYNIKI

### 5.1. Wpływ godziny podania na farmakokinetykę propofolu u królików

- Stężenia propofolu w osoczu królików w analizie chronofarmakokinetycznej zamieszczono w tabelach 38 – 40.
- Zmiany stężeń jako funkcji czasu przedstawiają wykresy 1 – 14.
- Parametry farmakokinetyczne propofolu w analizie chronofarmakokinetycznej przedstawiają tabele 41 – 44.
- Ocena statystyczna parametrów farmakokinetycznych propofolu w analizie chronofarmakokinetycznej została zamieszczona w tabelach 45 – 47.

## **5.2. Interakcje propofolu z wybranymi lekami miejscowo znieczulającymi**

### **5.2.1. Wpływ propofolu na farmakokinetykę lidokainy**

- Oznaczone stężenia oraz obliczone średnie stężenia lidokainy w osoczu królików w I i II etapie zamieszczono w tabelach 48 – 49.
- Zmiany stężeń lidokainy jako funkcji czasu przedstawiają wykresy 15 – 26.
- Parametry farmakokinetyczne lidokainy w badaniu interakcji z propofolem zostały przedstawione w tabelach 54 – 55.
- Analizę statystyczną wpływu propofolu na farmakokinetykę lidokainy przedstawiają tabele 60 – 61.

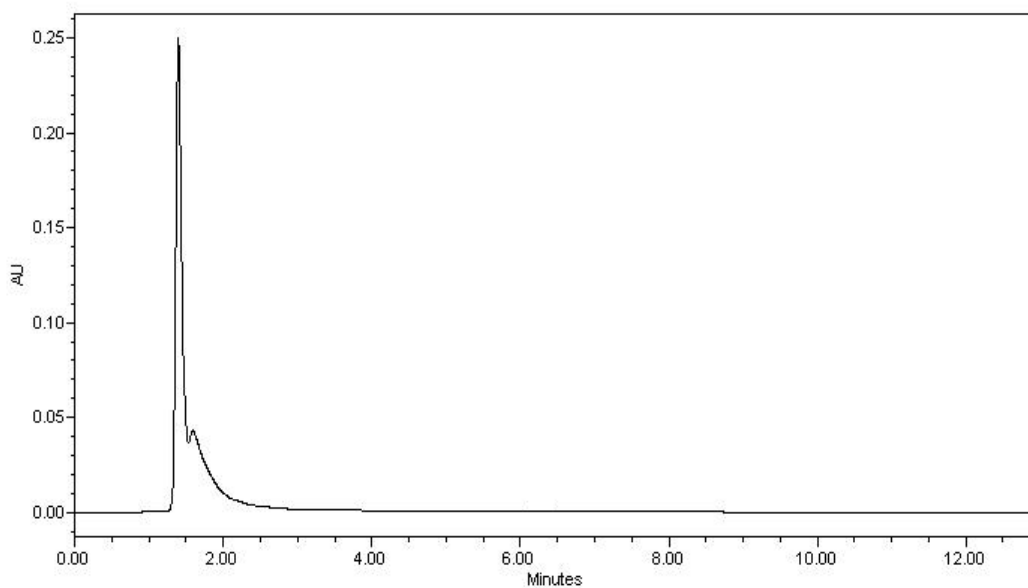
### **5.2.2. Wpływ propofolu na farmakokinetykę bupiwakainy i jej metabolitu – PPX**

- Oznaczone stężenia oraz obliczone średnie stężenia bupiwakainy i jej metabolitu PPX w osoczu królików w I i II etapie zamieszczono w tabelach 50 – 53.
- Zmiany stężeń bupiwakainy oraz PPX jako funkcji czasu przedstawiają wykresy 27 – 50.
- Parametry farmakokinetyczne bupiwakainy oraz PPX w badaniu interakcji z propofolem zostały przedstawione w tabelach 56 – 59.
- Analizę statystyczną wpływu propofolu na farmakokinetykę bupiwakainy oraz jej metabolitu PPX przedstawiają tabele 62 – 65.



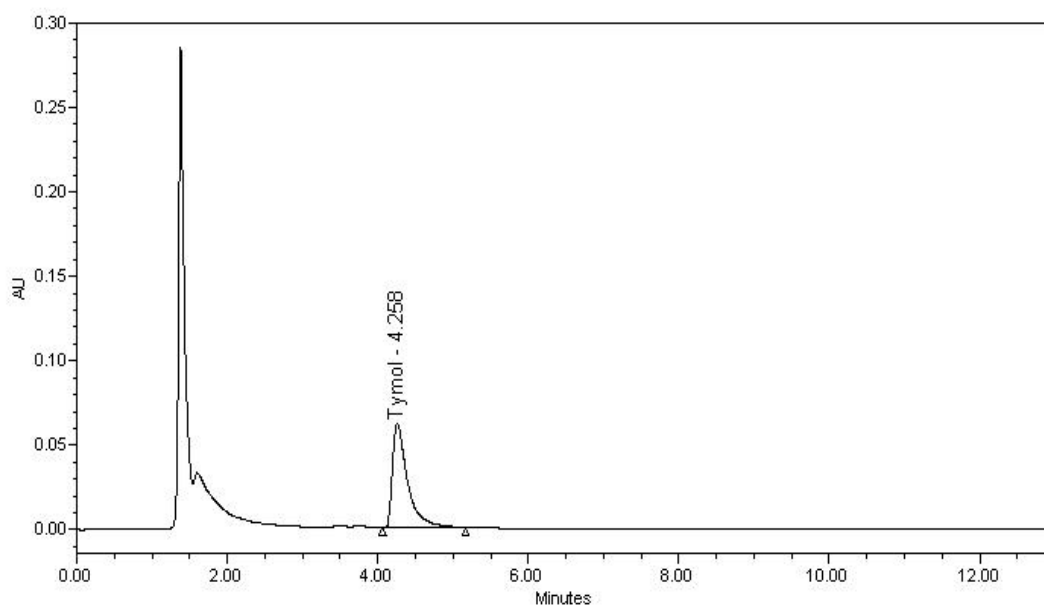
Rycina 8

Przykładowy chromatogram próby ślepej dla oznaczeń propofolu



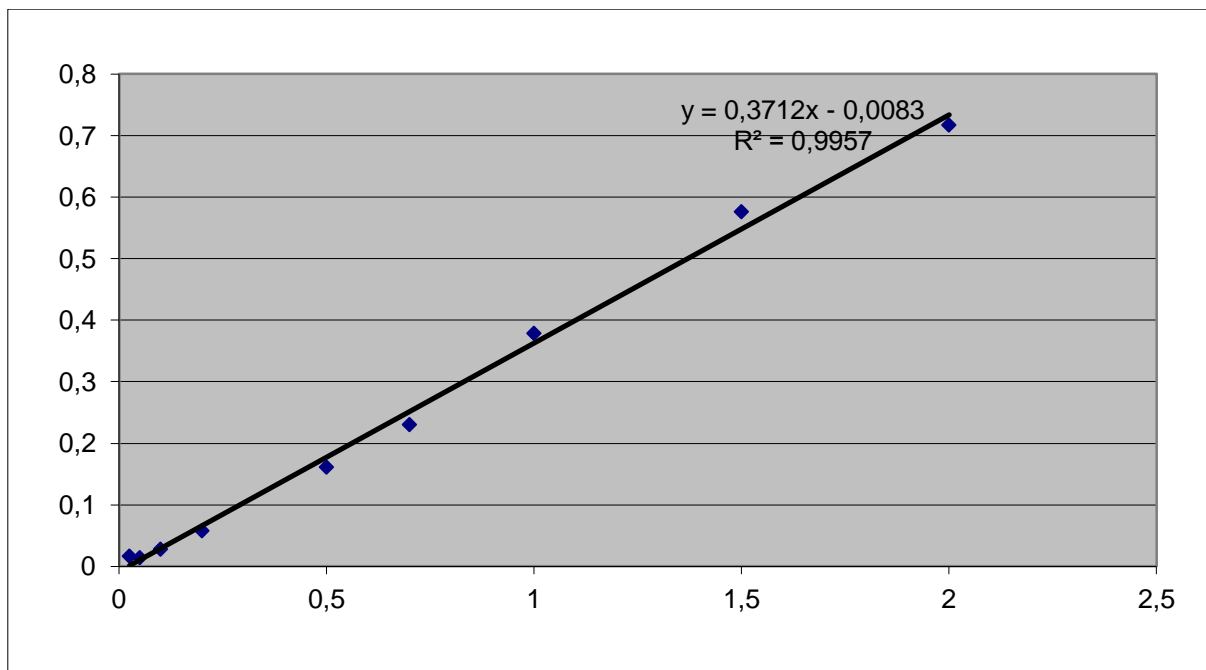
Rycina 9

Przykładowy chromatogram próby zerowej dla oznaczeń propofolu



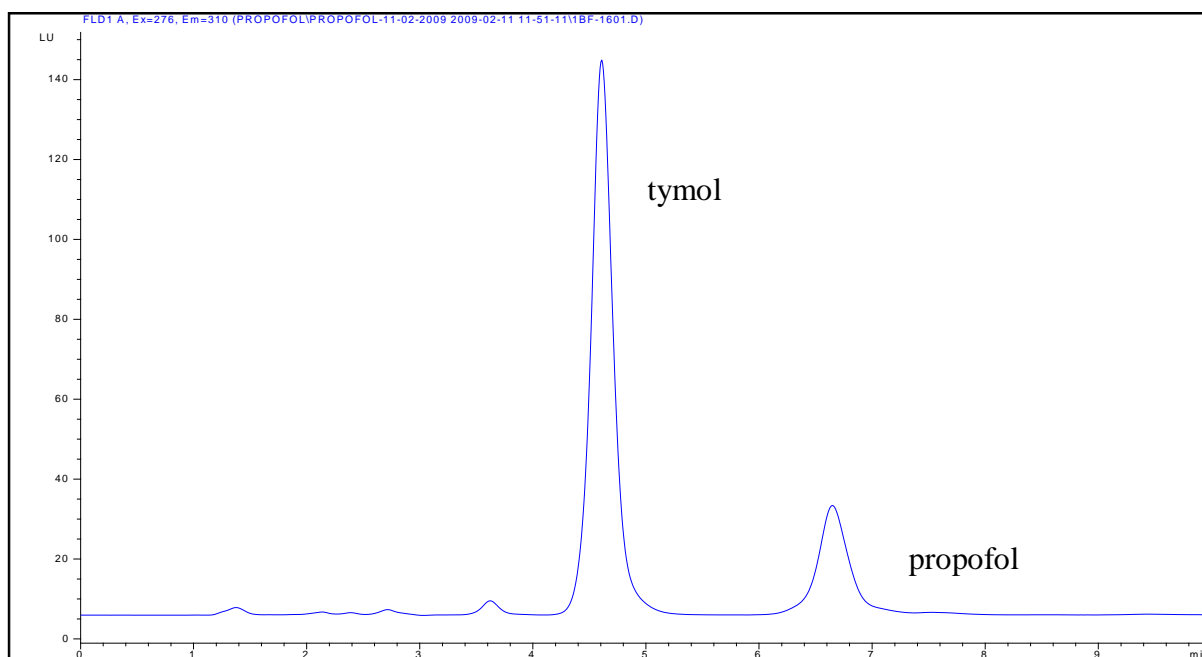
Rycina 10

Średnia krzywa kalibracyjna dla propofolu w osoczu krwi królików



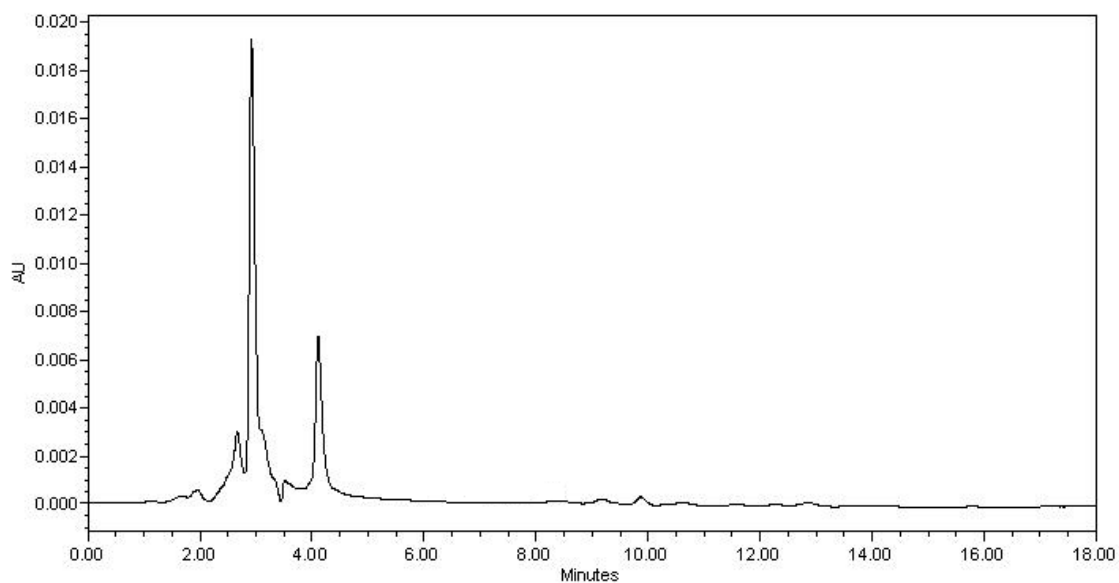
Rycina 11

Przykładowy chromatogram propofolu w osoczu krwi królika



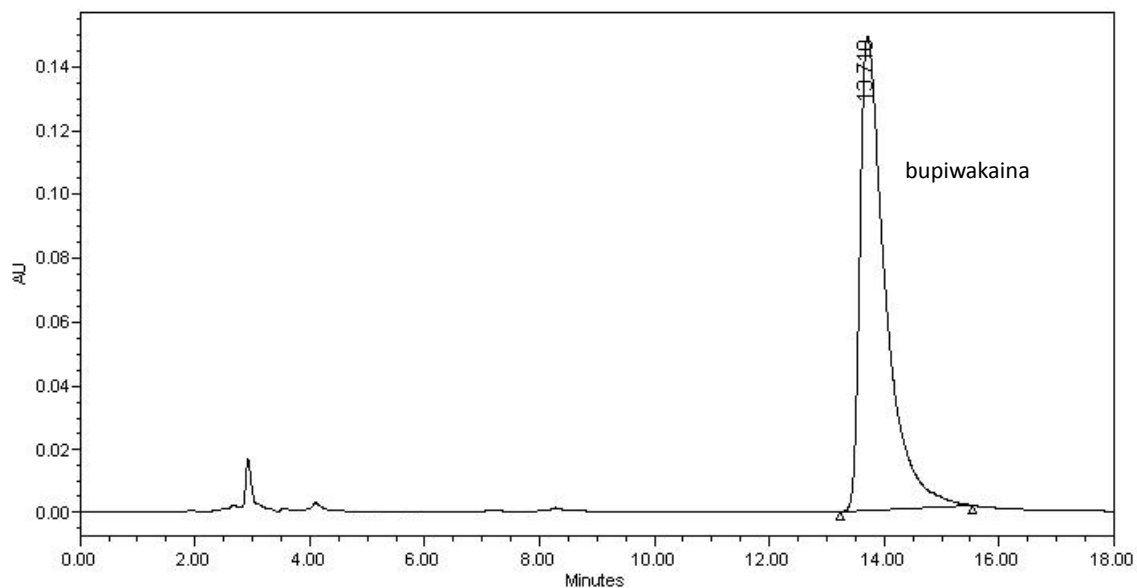
Rycina 12

Przykładowy chromatogram próby ślepej dla oznaczeń lidokainy



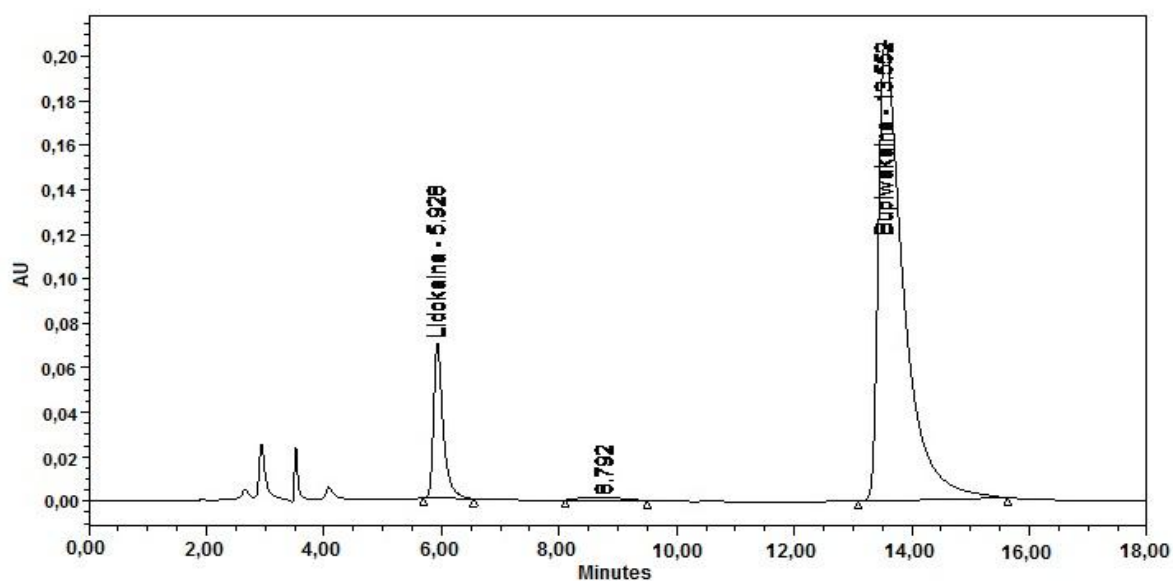
Rycina 13

Przykładowy chromatogram próby zerowej dla oznaczeń lidokainy



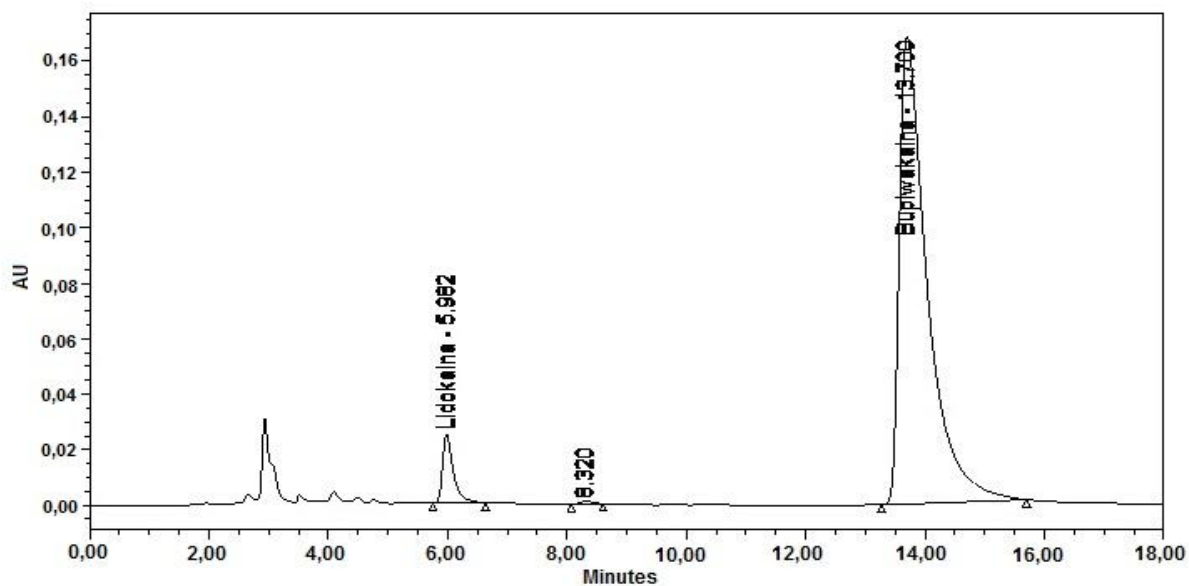
Rycina 14

Przykładowy chromatogram dla krzywej kalibracyjnej lidokainy 100 ng/ml



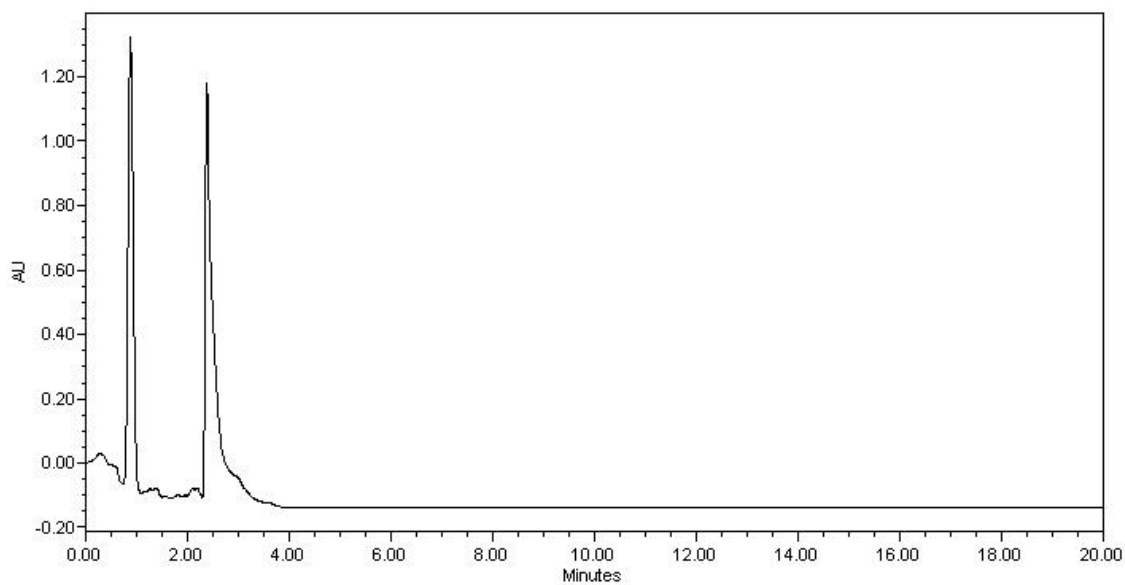
Rycina 15

Przykładowy chromatogram próbki osocza królika nr 4 30' po podaniu lidokainy



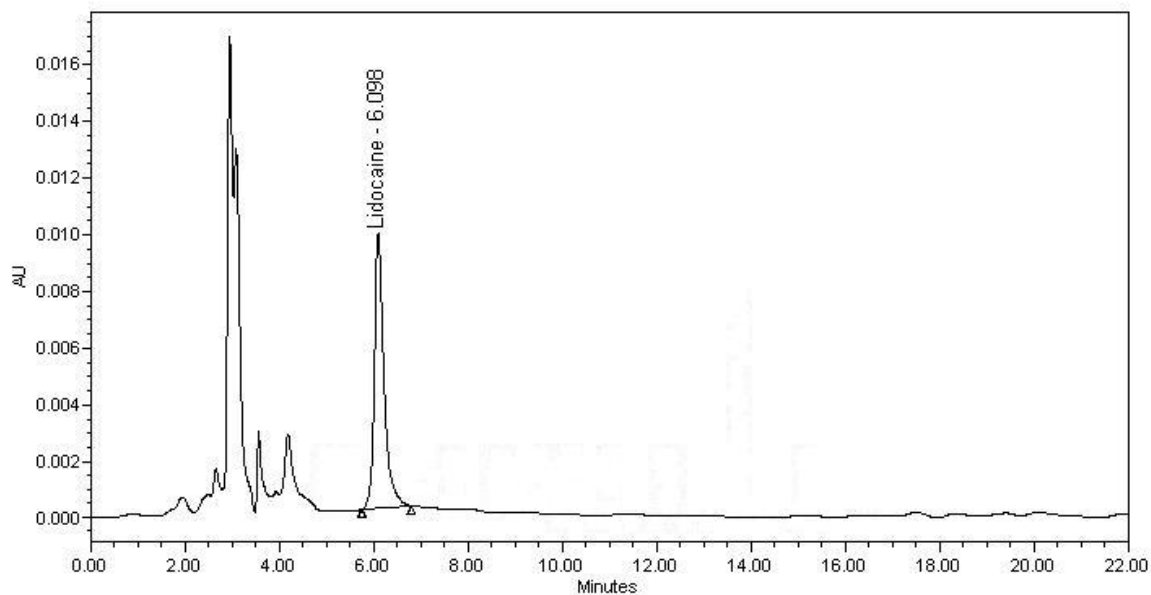
Rycina 16

Przykładowy chromatogram próby ślepej dla oznaczeń bupiwakainy i PPX



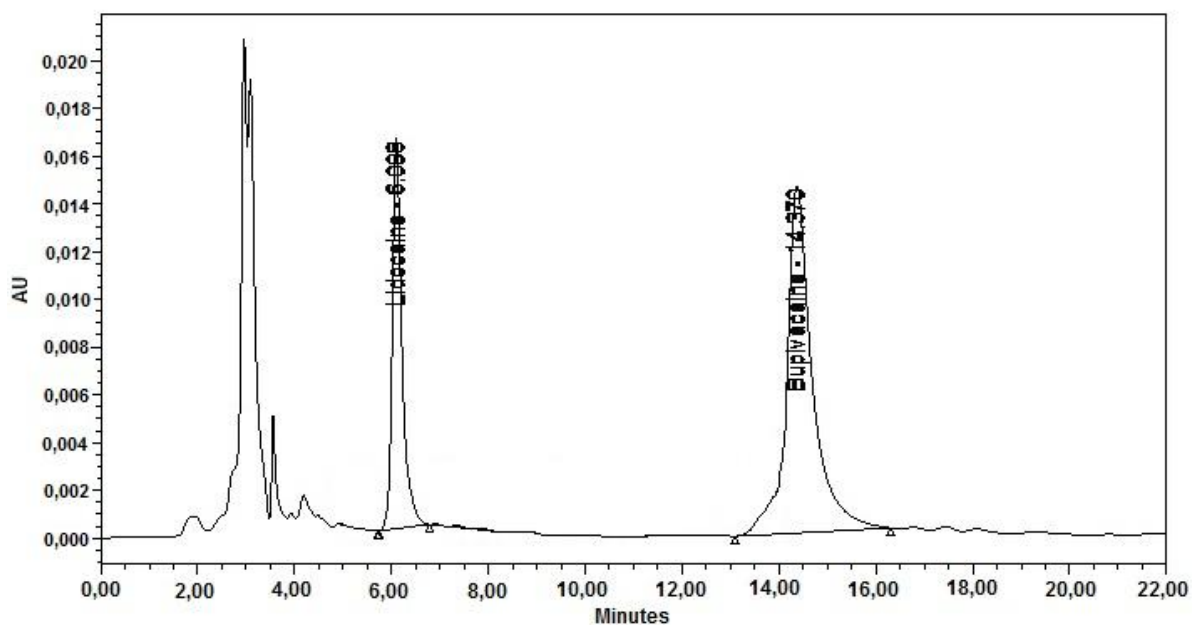
Rycina 17

Przykładowy chromatogram próby zerowej dla oznaczeń bupiwakainy i PPX



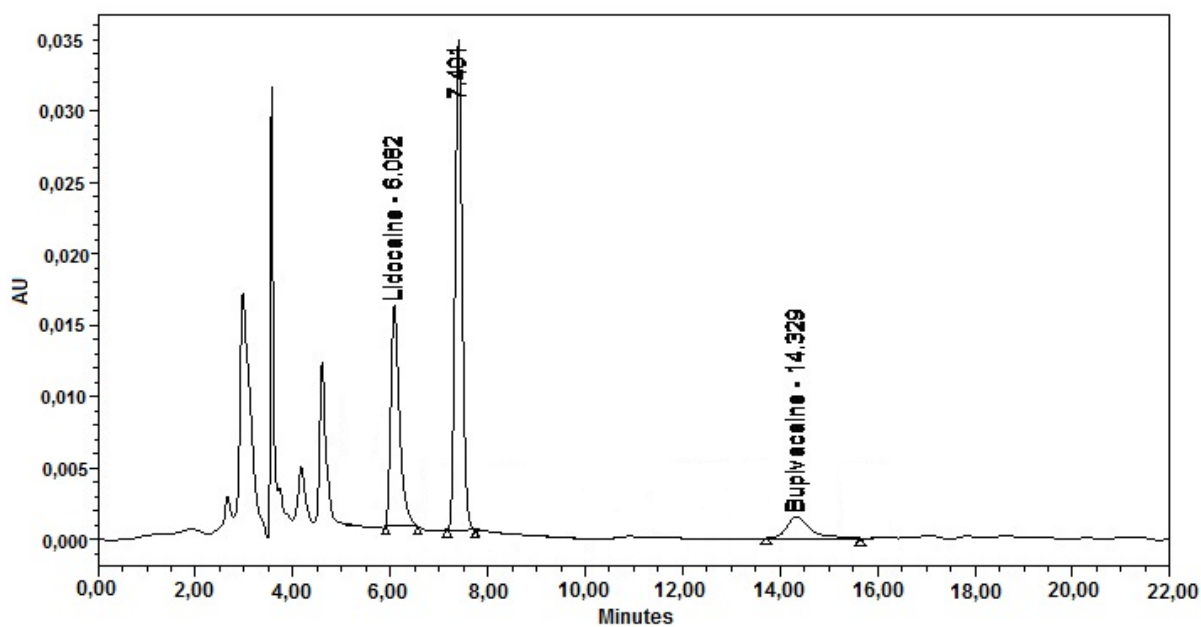
Rycina 18

Przykładowy chromatogram dla krzywej kalibracyjnej bupiwakainy (800 ng/ml)



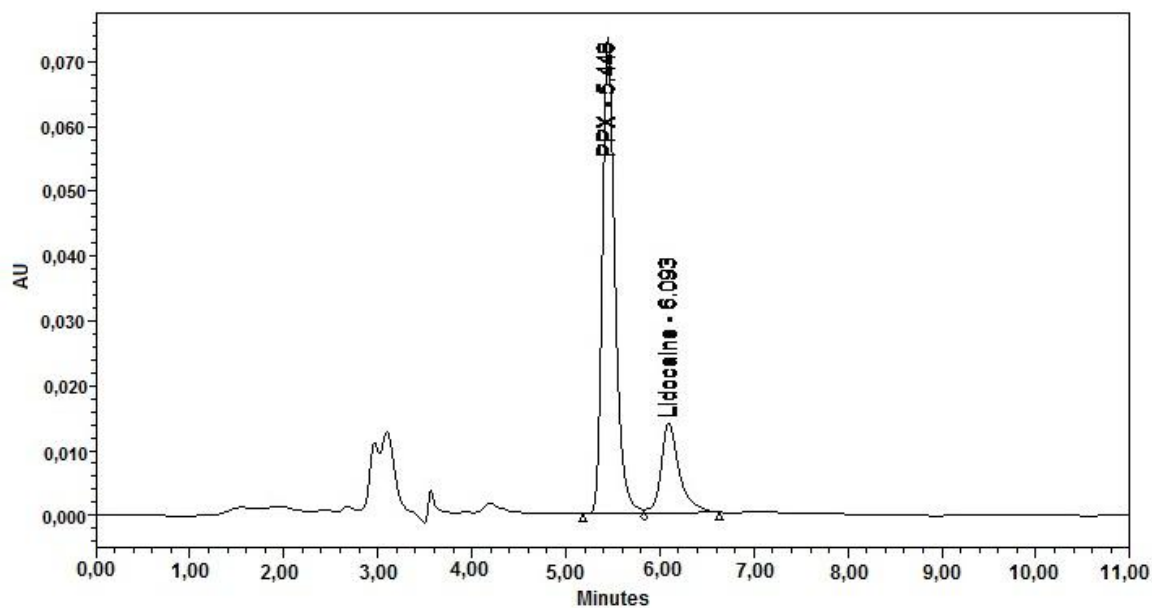
Rycina 19

Przykładowy chromatogram próbki osocza królika nr 2 180' po podaniu bupiwakainy



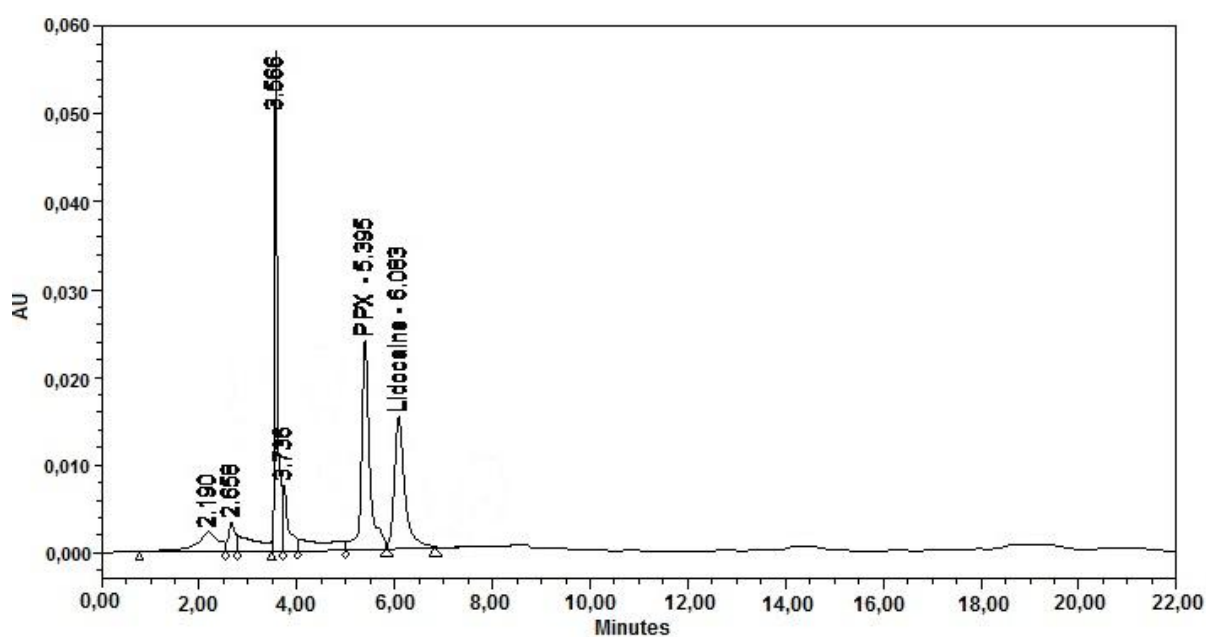
Rycina 20

Przykładowy chromatogram dla krzywej kalibracyjnej PPX (700 ng/ml)



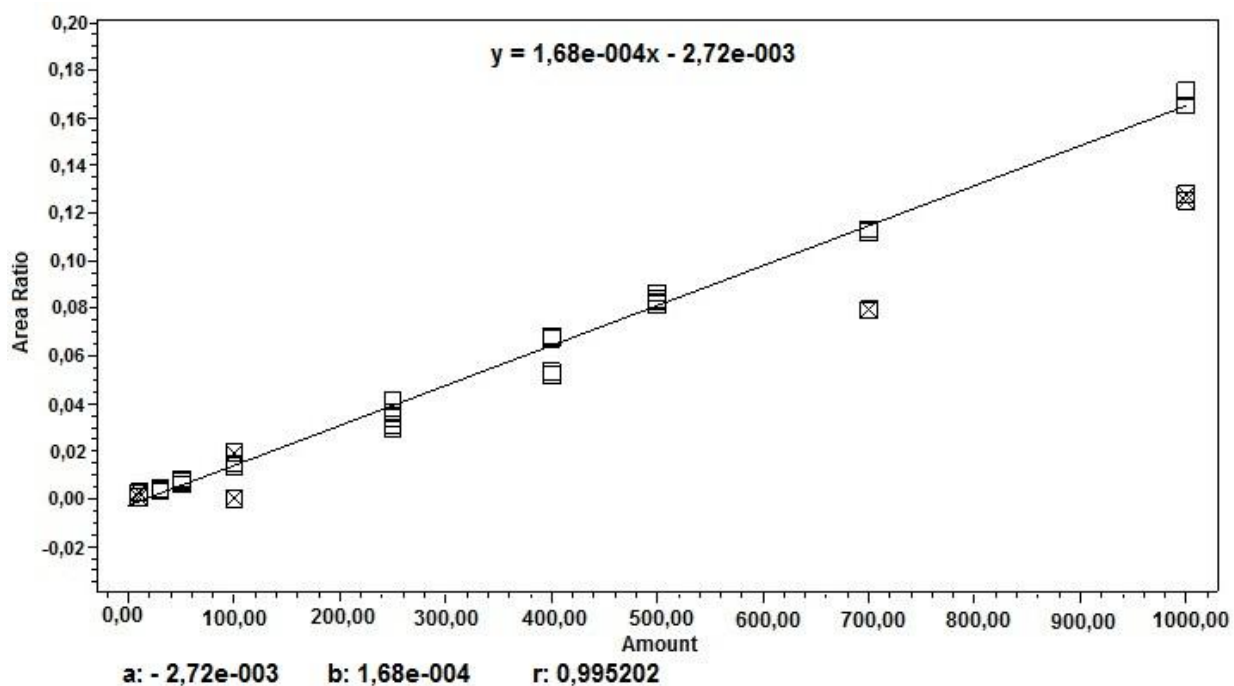
Rycina 21

Przykładowy chromatogram dla PPX w próbce osocza królika nr 2 60' po podaniu bupiwakainy



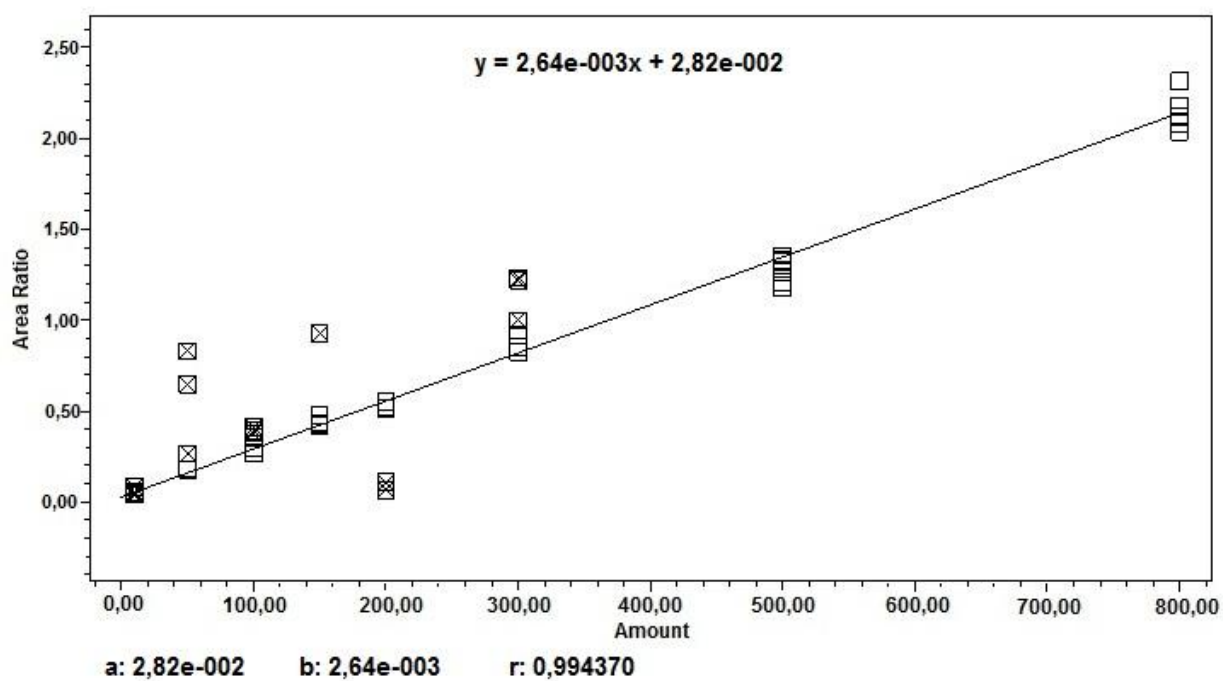
Rycina 22

Średnia krzywa kalibracyjna dla lidokainy



Rycina 23

Średnia krzywa kalibracyjna dla bupiwakainy





Średnia krzywa kalibracyjna dla PPX

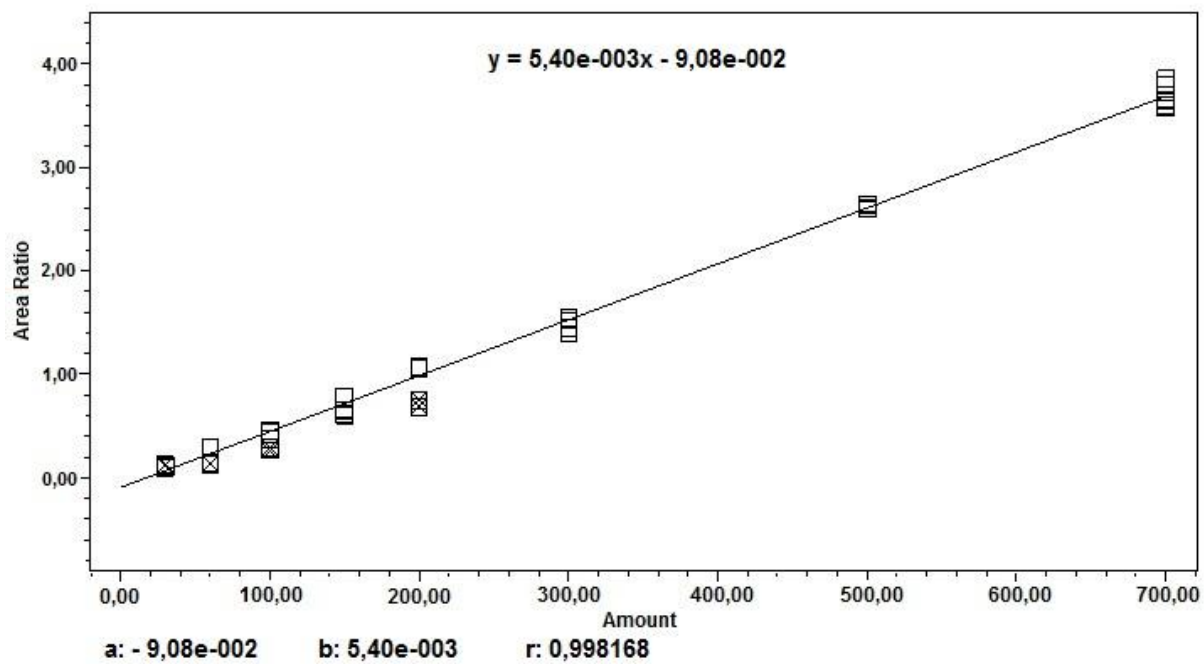


Tabela 30

Randomizacja królików i godziny podania propofolu w poszczególnych etapach badania w analizie chronofarmakokinetycznej

Królik	Etap I	Etap II	Etap III
<b>1</b>	10:00	16:00	22:00
<b>2</b>	10:00	16:00	22:00
<b>3</b>	10:00	16:00	22:00
<b>4</b>	16:00	22:00	10:00
<b>5</b>	16:00	22:00	10:00
<b>6 / 6A*</b>	16:00	22:00	10:00
<b>7 / 7A*</b>	22:00	10:00	16:00
<b>8</b>	22:00	10:00	16:00
<b>9</b>	22:00	10:00	16:00

\* - Króliki nr 6 (udział w etapie I i III) i 7 (udział w etapie I) z powodu choroby zostały wyeliminowane w trakcie badania, w kolejnych etapach włączono króliki 6A (etap II i III) oraz 7A (etap II i III)

Tabela 31

Charakterystyka królików oraz dawki propofolu w etapie I

Numer królika	Masa ciała [kg]	Dawka propofol [mg]
<b>1</b>	4,9	24,5
<b>2</b>	3,9	19,5
<b>3</b>	3,2	16,0
<b>4</b>	3,5	17,5
<b>5</b>	3,5	17,5
<b>6</b>	3,5	17,5
<b>7</b>	2,9	14,5
<b>8</b>	3,2	16,0
<b>9</b>	3,3	16,5
<b>S</b>	3,54	17,72
<b>SD</b>	0,58	2,90
<b>Mediana</b>	3,50	17,50

Tabela 32

Charakterystyka królików i dawki propofolu – etap II

Numer królika	Masa ciała [kg]	Dawka propofol [mg]
<b>1</b>	4,9	24,5
<b>2</b>	4,0	20,0
<b>3</b>	3,2	16,0
<b>4</b>	3,5	17,5
<b>5</b>	3,7	18,5
<b>6A</b>	3,3	16,5
<b>7A</b>	3,6	18,0
<b>8</b>	3,4	17,0
<b>9</b>	3,3	16,5
<b>S</b>	3,66	18,28
<b>SD</b>	0,53	2,64
<b>Mediana</b>	3,50	17,50

Tabela 33

Charakterystyka królików i dawki propofolu - etap III

Numer królika	Masa ciała [kg]	Dawka propofol [mg]
<b>1</b>	5,2	26,0
<b>2</b>	3,2	16,0
<b>3</b>	3,4	17,0
<b>4</b>	3,8	19,0
<b>5</b>	3,3	16,0
<b>6</b>	3,4	17,0
<b>6A</b>	3,2	16,0
<b>7A</b>	3,6	18,0
<b>8</b>	3,7	18,5
<b>9</b>	3,6	18,0
<b>S</b>	3,64	18,15
<b>SD</b>	0,59	2,96
<b>Mediana</b>	3,50	17,50

Tabela 34

Badanie interakcji lidokainy z propofolem –  
charakterystyka królików w etapie I

Numer królika	Masa ciała [kg]	Dawka lidokainy [mg]
<b>1</b>	4,3	12,9
<b>2</b>	4,4	13,2
<b>3</b>	3,7	11,1
<b>4</b>	4,7	14,1
<b>5</b>	4,5	13,5
<b>6</b>	4,9	14,7
<b>7</b>	4,3	12,9
<b>8</b>	3,5	10,5
<b>9</b>	3,9	11,7
<b>10</b>	4,0	12,0
<b>S</b>	4,22	12,66
<b>SD</b>	0,44	1,33
<b>Mediana</b>	4,30	12,90

Tabela 35

Badanie interakcji lidokainy z propofolem –  
charakterystyka królików w etapie II

Numer królika	Masa ciała [kg]	Dawka lidokainy [mg]	Dawka propofolu [mg]
<b>1</b>	4,3	12,9	21,5
<b>2</b>	4,5	13,5	22,5
<b>3</b>	3,7	11,1	18,5
<b>4</b>	4,7	14,1	23,5
<b>5</b>	4,3	12,9	21,5
<b>6</b>	4,9	14,7	24,5
<b>7</b>	4,3	12,9	21,5
<b>8</b>	3,9	11,7	19,5
<b>S</b>	4,33	12,98	21,63
<b>SD</b>	0,39	1,18	1,96
<b>Mediana</b>	4,30	12,90	21,50

Tabela 36

Badanie interakcji propofolu i bupiwakainy –  
charakterystyka królików w etapie I

Numer królika	masa ciała [kg]	dawka bupiwakainy [mg]
<b>1</b>	3,8	3,8
<b>2</b>	4,1	4,1
<b>3</b>	4,0	4,0
<b>4</b>	4,2	4,2
<b>5</b>	4,0	4,0
<b>6</b>	3,9	3,9
<b>7</b>	3,8	3,8
<b>8</b>	4,2	4,2
<b>9</b>	3,7	3,7
<b>10</b>	4,0	4,0
<b>S</b>	3,97	3,97
<b>SD</b>	0,17	0,17
<b>Mediana</b>	4,00	4,00

Tabela 37

Badanie interakcji bupiwakainy i propofolu –  
charakterystyka królików etap II

Numer królika	Masa ciała [kg]	dawka bupiwakainy [mg]	dawka propofolu [mg]
<b>1</b>	2,8	2,8	14,0
<b>2</b>	4,8	4,8	24,0
<b>3</b>	4,3	4,3	21,5
<b>4</b>	3,1	3,1	15,5
<b>5</b>	3,9	3,9	19,5
<b>6</b>	4,7	4,7	23,5
<b>7</b>	4,1	4,1	20,5
<b>8</b>	4,5	4,5	22,5
<b>9</b>	4,0	4,0	20,0
<b>10</b>	4,4	4,4	22,0
<b>S</b>	4,06	4,06	20,30
<b>SD</b>	0,66	0,66	3,28
<b>Mediana</b>	4,20	4,20	21,00

Tabela 38

Stężenia propofolu we krwi królików w analizie chronofarmakokinetycznej o godzinie 10:00

t (min)	C propofolu [µg/ml]										S	SD	CV%
	K nr 1	K nr 2	K nr 3	K nr 4	K nr 5	K nr 6	K nr 6A	K nr 7A	K nr 8	K nr 9			
5	0,323	0,210	0,663	0,592	0,574	0,458	0,252	-	0,584	0,561	0,469	0,166	35,479
stop wlew	0,387	0,203	0,326	0,107	0,473	-	0,101	0,943	0,613	0,586	0,415	0,273	65,794
3	-	-	-	0,076	0,076	0,267	0,056	0,295	0,139	0,091	0,143	0,098	68,673
5	0,058	0,055	0,085	0,050	0,072	0,165	-	0,158	0,117	0,070	0,092	0,044	47,778
10	0,038	0,048	0,081	0,056	0,048	0,124	0,039	0,071	0,049	0,059	0,061	0,026	42,093
15	0,031	-	0,046	0,028	0,036	-	0,030	0,040	0,052	0,038	0,038	0,008	22,006
30	-	0,043	0,039	-	-	-	-	0,038	0,054	-	0,044	0,007	16,841

Tabela 39

Stężenia propofolu we krwi królików w analizie chronofarmakokinetycznej o godzinie 16:00

t (min)	C propofolu [ $\mu\text{g/ml}$ ]									S	SD	CV%
	K nr 1	K nr 2	K nr 3	K nr 4	K nr 5	K nr 6	K nr 7A	K nr 8	K nr 9			
5	0,476	0,336	0,935	0,380	0,369	0,215	0,321	0,978	0,534	0,505	0,272	53,831
stop wlew	0,637	0,348	0,834	0,415	0,528	0,264	0,131	0,132	0,241	0,392	0,238	60,553
3	0,119	0,154	0,234	-	-	-	0,085	0,054	0,075	0,120	0,066	54,897
5	0,081	0,076	0,148	0,076	0,103	0,037	0,053	0,056	0,052	0,076	0,033	44,173
10	0,050	0,054	0,089	0,034	0,040	0,031	0,034	0,042	0,030	0,045	0,019	41,220
15	0,046	0,055	0,057	0,030	0,055	0,046	0,032	0,039	0,039	0,044	0,010	22,669
30	0,037	0,038	0,048	0,033	0,046	0,029	-	-	-	0,039	0,007	19,069

Tabela 40

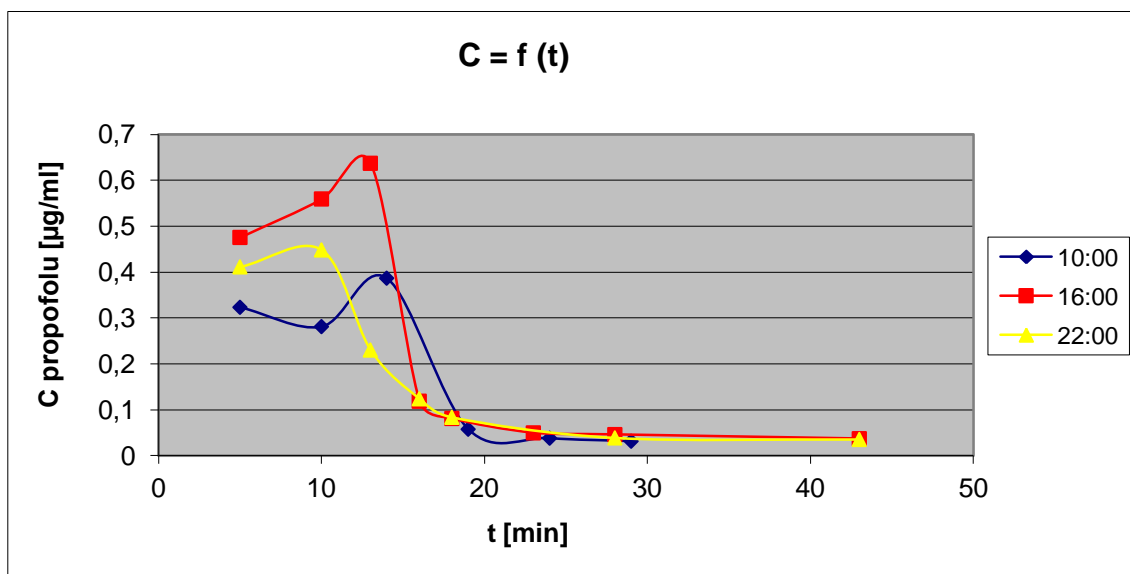
Stężenia propofolu we krwi królików w analizie chronofarmakokinetycznej o godzinie 22:00

t (min)	C propofolu [ $\mu\text{g/ml}$ ]									S	SD	CV%
	K nr 1	K nr 2	K nr 3	K nr 4	K nr 5	K nr 6A	K nr 7A	K nr 8	K nr 9			
5	0,411	0,888	0,626	0,305	0,632	0,571	0,748	0,368	0,469	0,558	0,189	33,847
stop wlew	0,23	0,409	0,417	0,162	0,818	0,373	0,231	0,13	0,39	0,351	0,206	58,837
3	0,124	0,06	0,067	0,146	0,16	0,091	-	-	-	0,108	0,042	38,575
5	0,083	0,042	0,126	0,085	0,119	0,077	0,049	0,058	0,066	0,079	0,029	37,054
10	-	0,038	0,082	0,074	0,078	0,111	0,045	0,048	0,049	0,066	0,024859	37,881
15	0,039	0,037	0,065	0,063	0,065	0,052	0,055	0,046	0,035	0,051	0,012112	23,852
30	0,035	-	0,04	0,053	0,033	0,034	0,039	0,045	0,036	0,039	0,006739	17,114



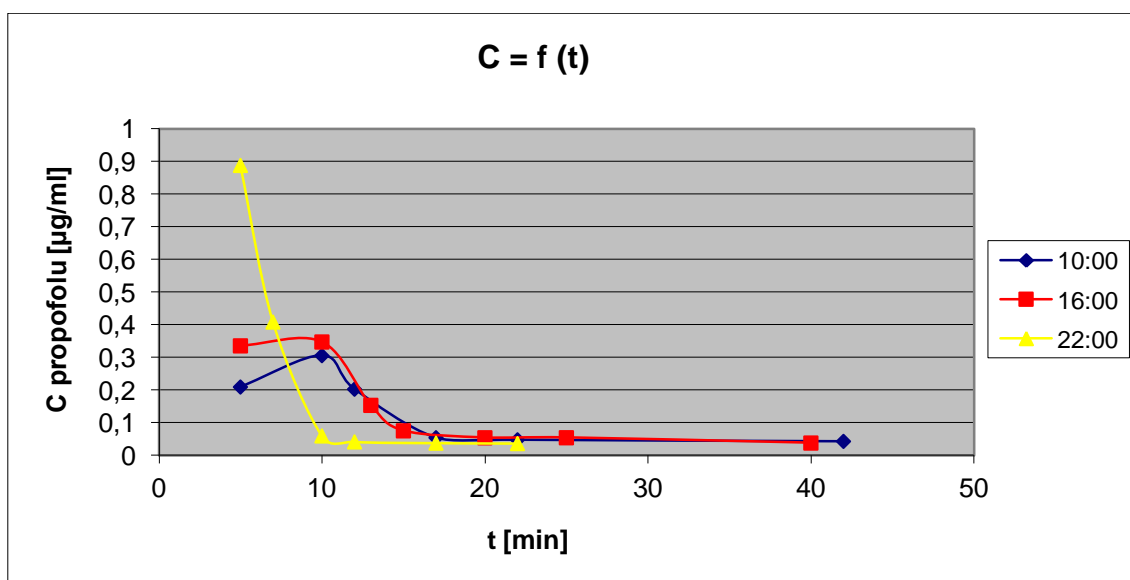
Wykres 1

Zmiany stężenia propofolu w czasie u królika nr 1



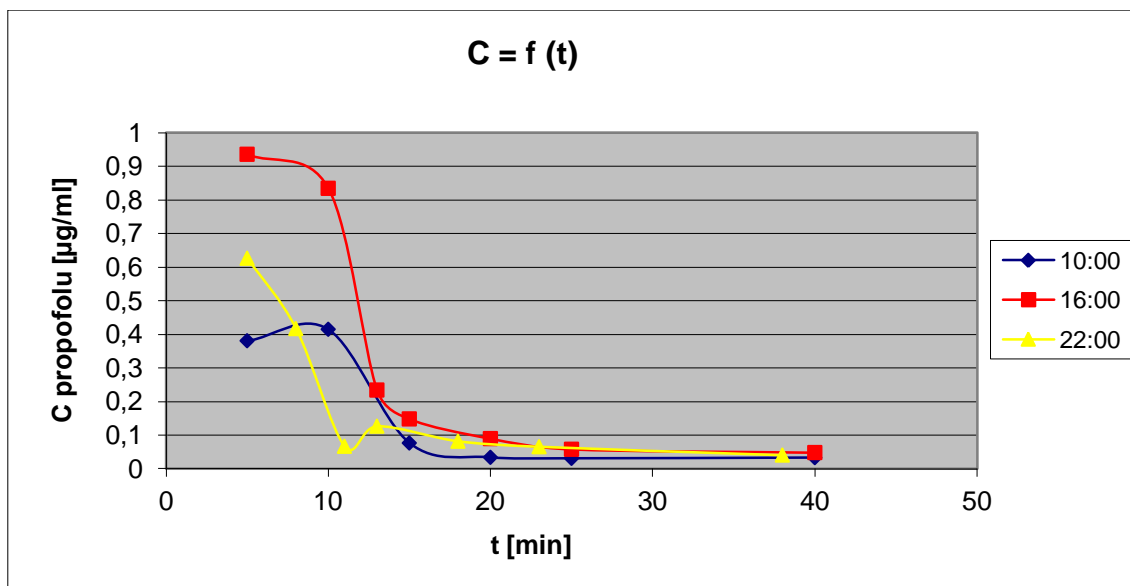
Wykres 2

Zmiany stężenia propofolu w czasie u królika nr 2



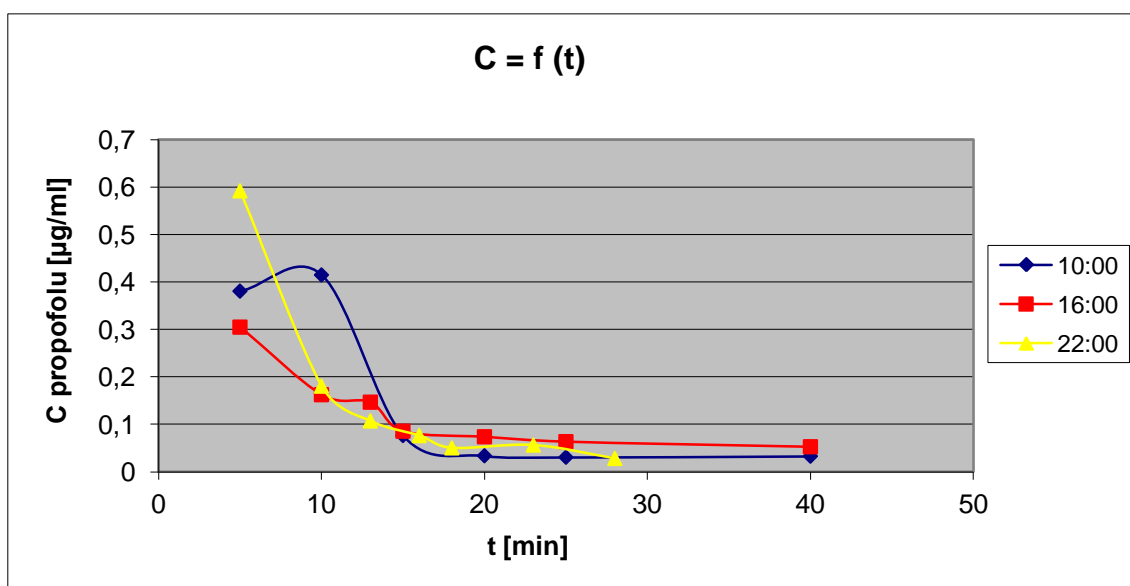
Wykres 3

Zmiany stężenia propofolu w czasie u królika nr 3



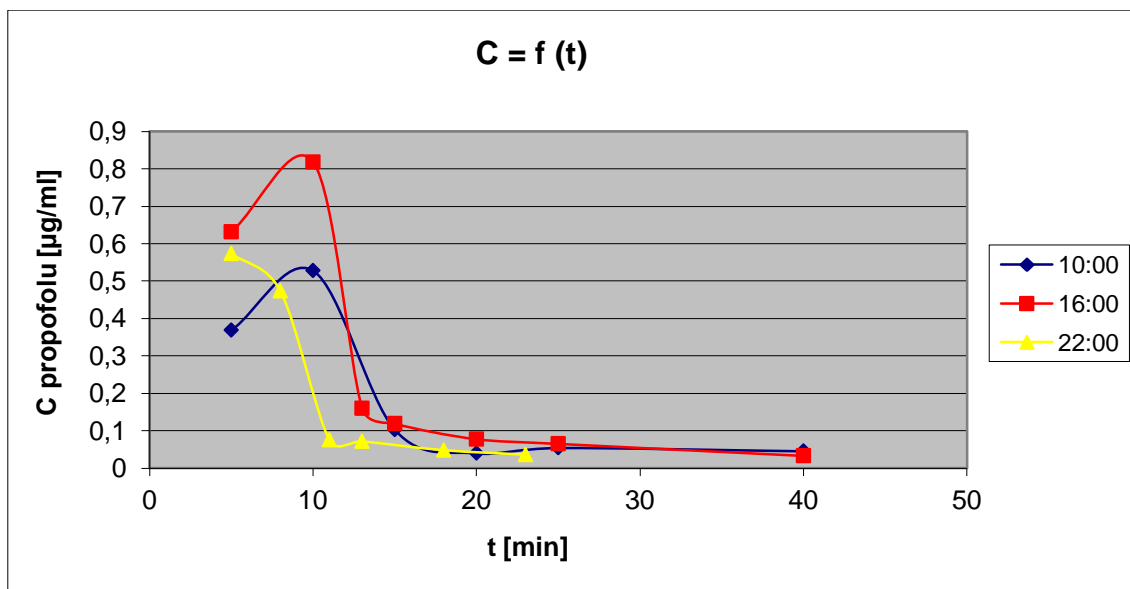
Wykres 4

Zmiany stężenia propofolu w czasie u królika nr 4



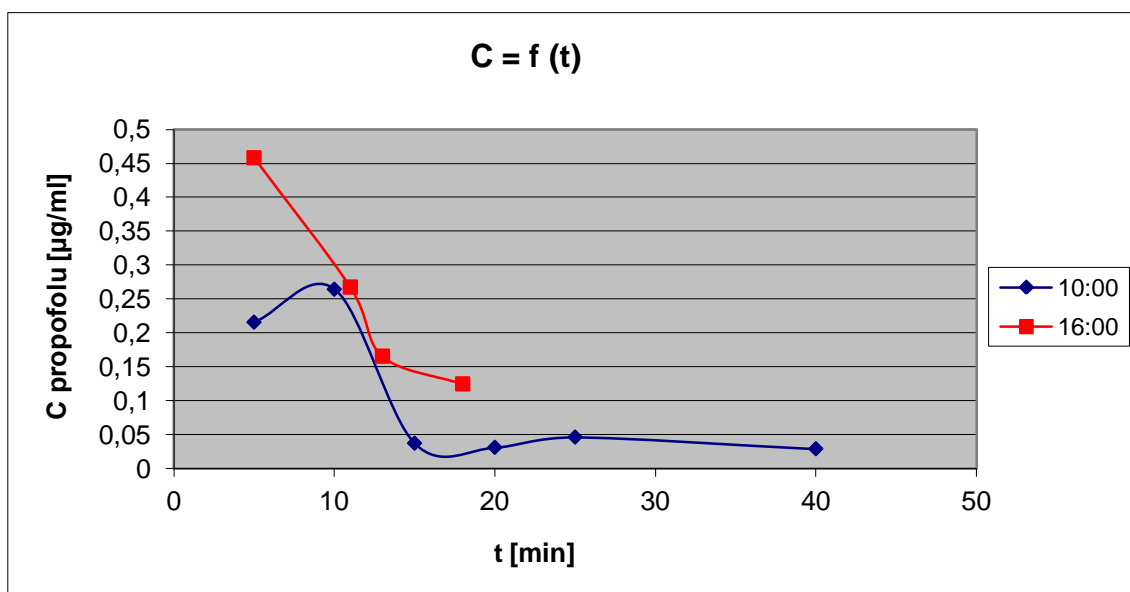
Wykres 5

Zmiany stężenia propofolu w czasie u królika nr 5



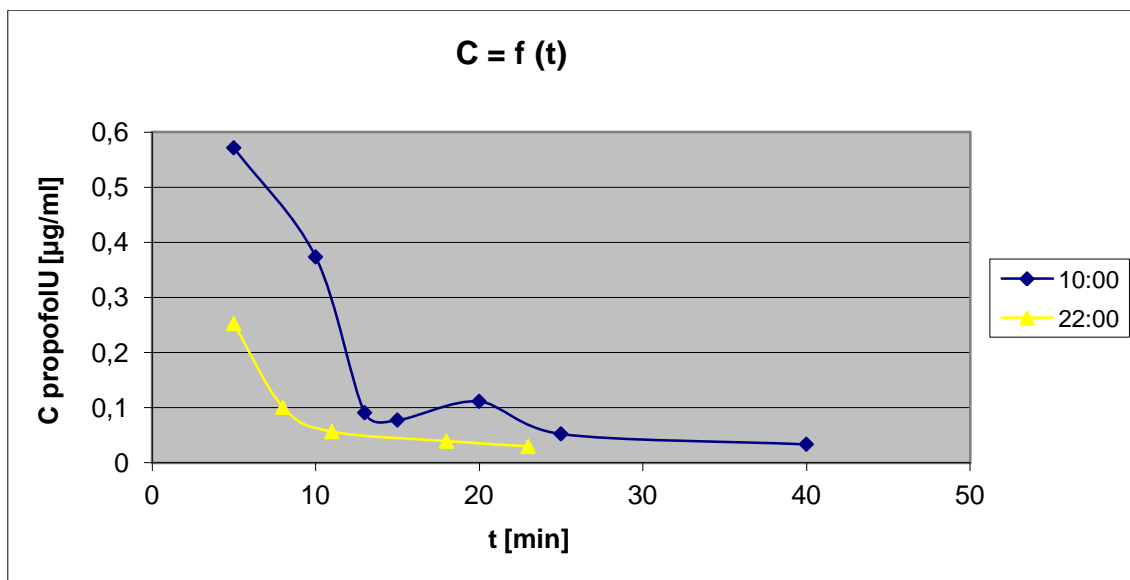
Wykres 6

Zmiany stężenia propofolu w czasie u królika nr 6



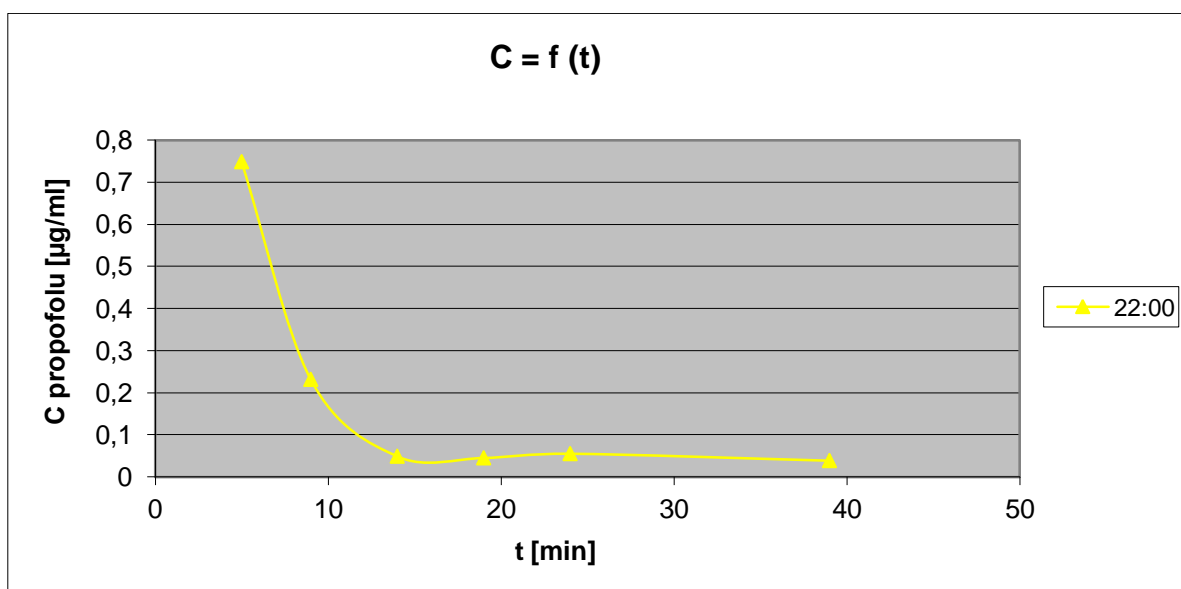
Wykres 7

Zmiany stężenia propofolu w czasie u królika nr 6A



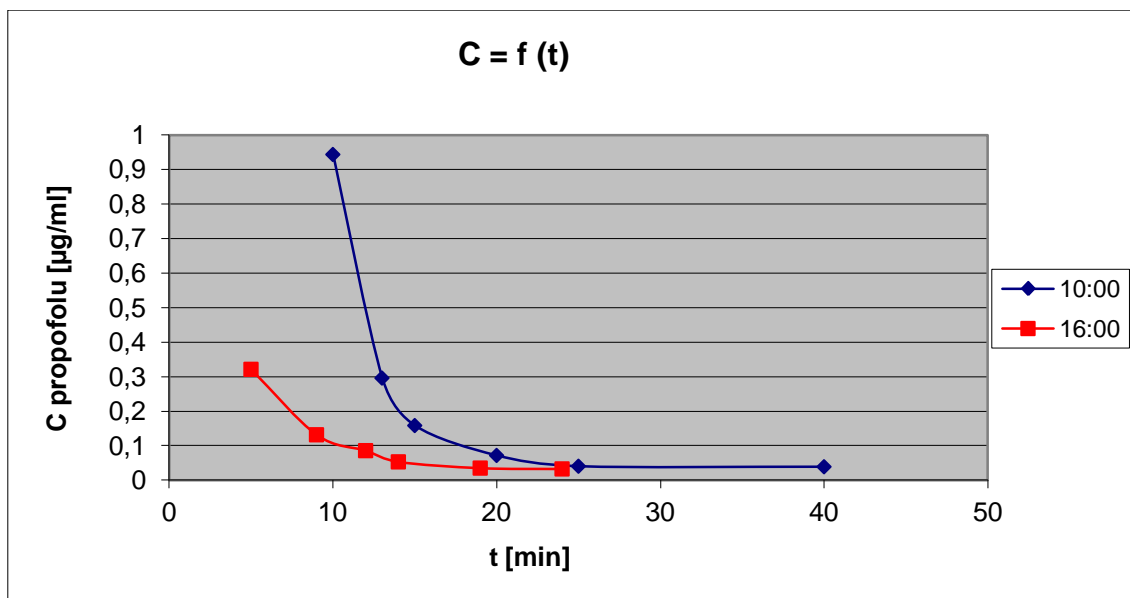
Wykres 8

Zmiany stężenia propofolu w czasie u królika nr 7



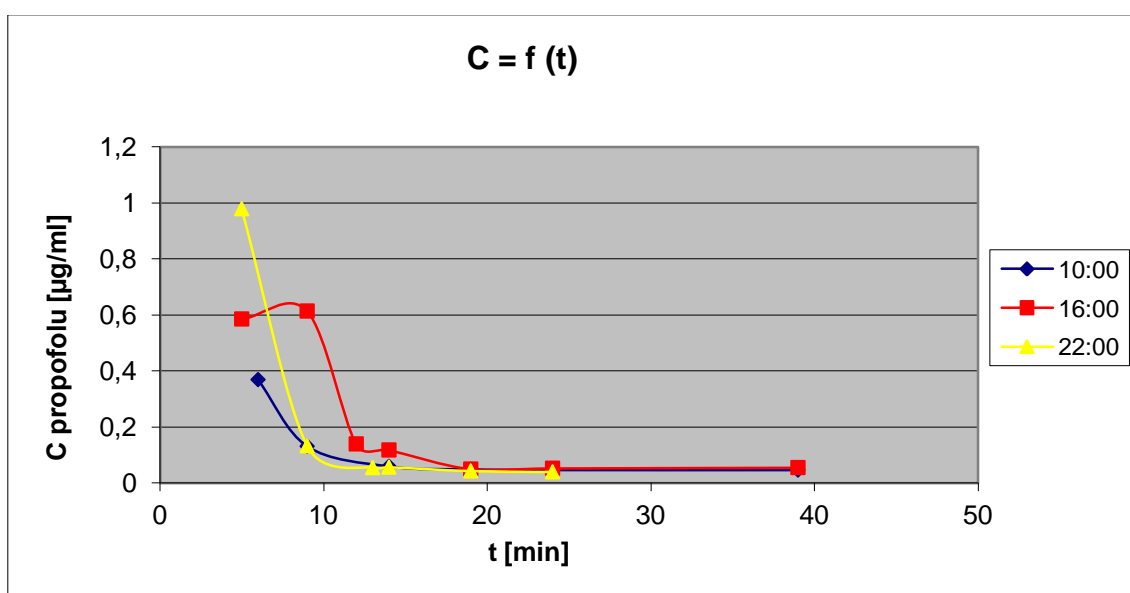
Wykres 9

Zmiany stężenia propofolu w czasie u królika nr 7A



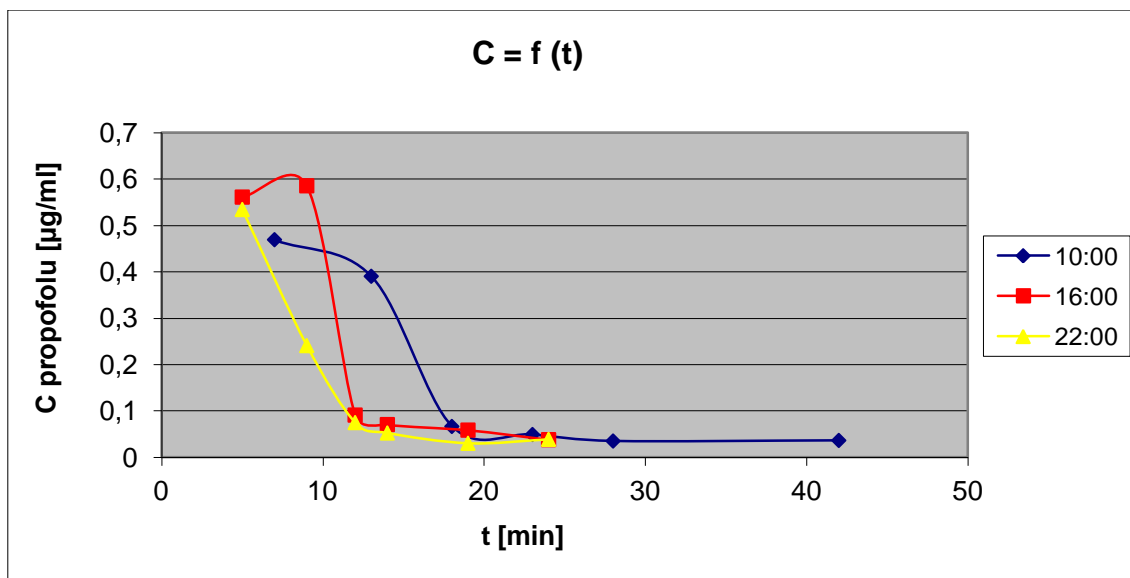
Wykres 10

Zmiany stężenia propofolu w czasie u królika nr 8



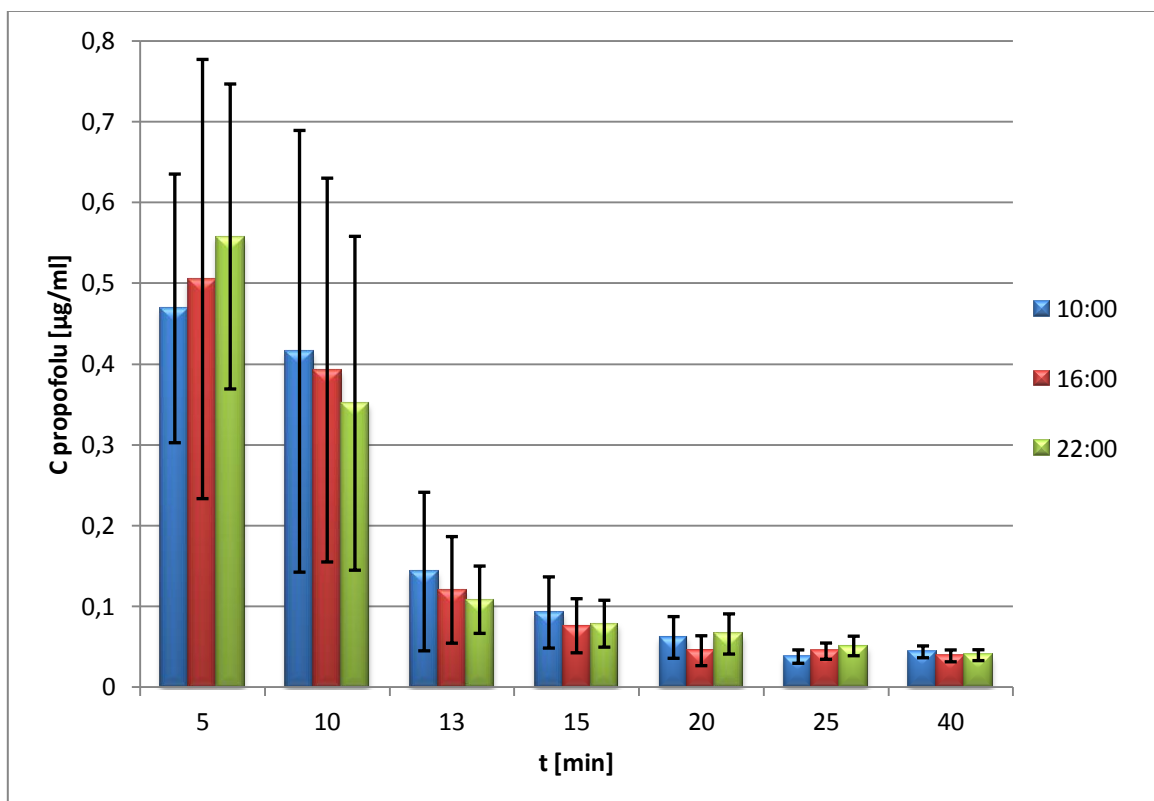
Wykres 11

Zmiany stężenia propofolu w czasie u królika nr 9



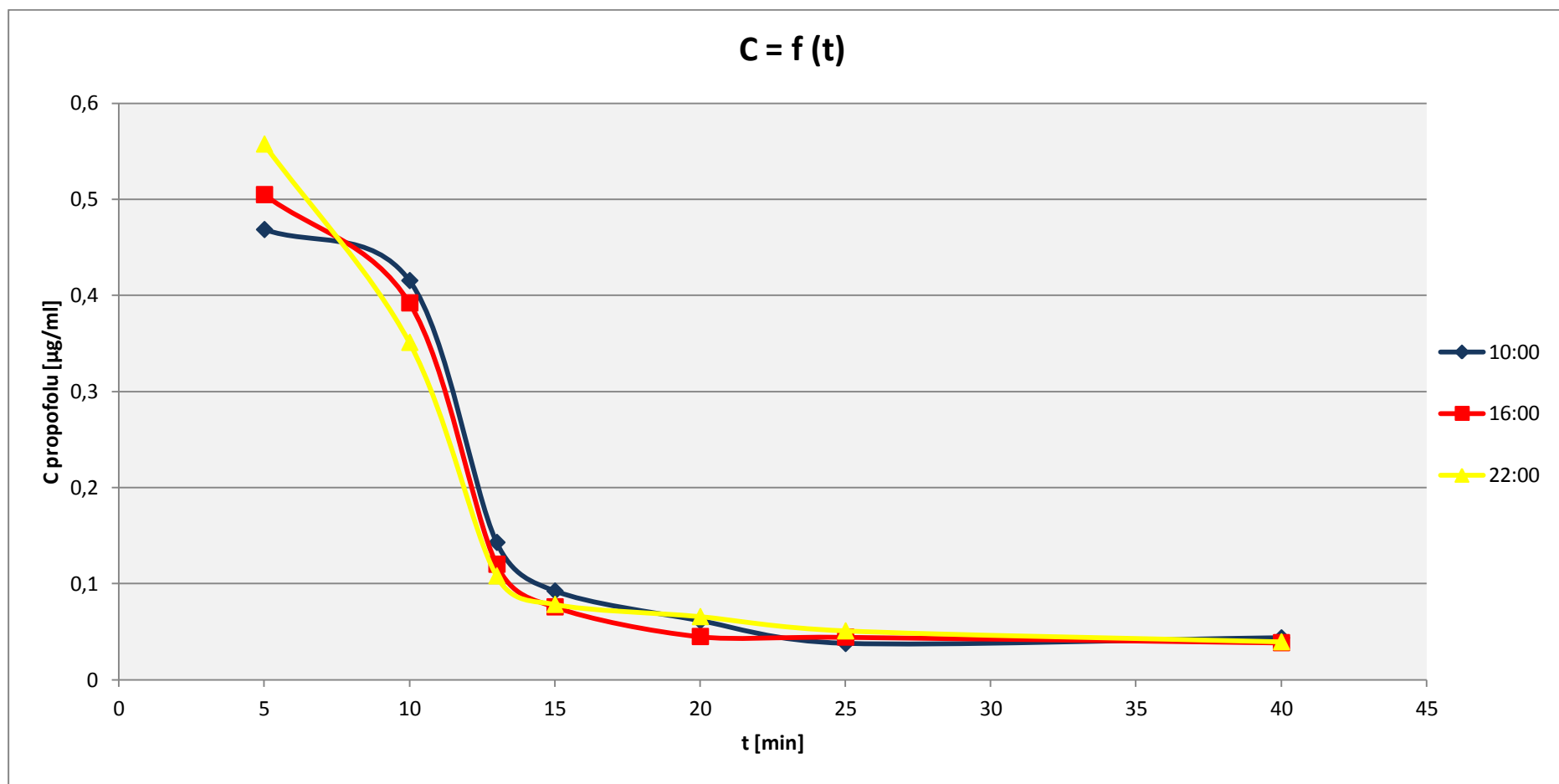
Wykres 12

Średnie stężenia propofolu i ich odchylenia standardowe w osoczu krwi królików o godzinach 10:00, 16:00, 22:00



Wykres 13

Zmiany średniego stężenia propofolu w czasie w zależności od godziny podania



Wykres 14

Zmiany średniego stężenia propofolu w czasie po zakończeniu wlewu w zależności od godziny podania

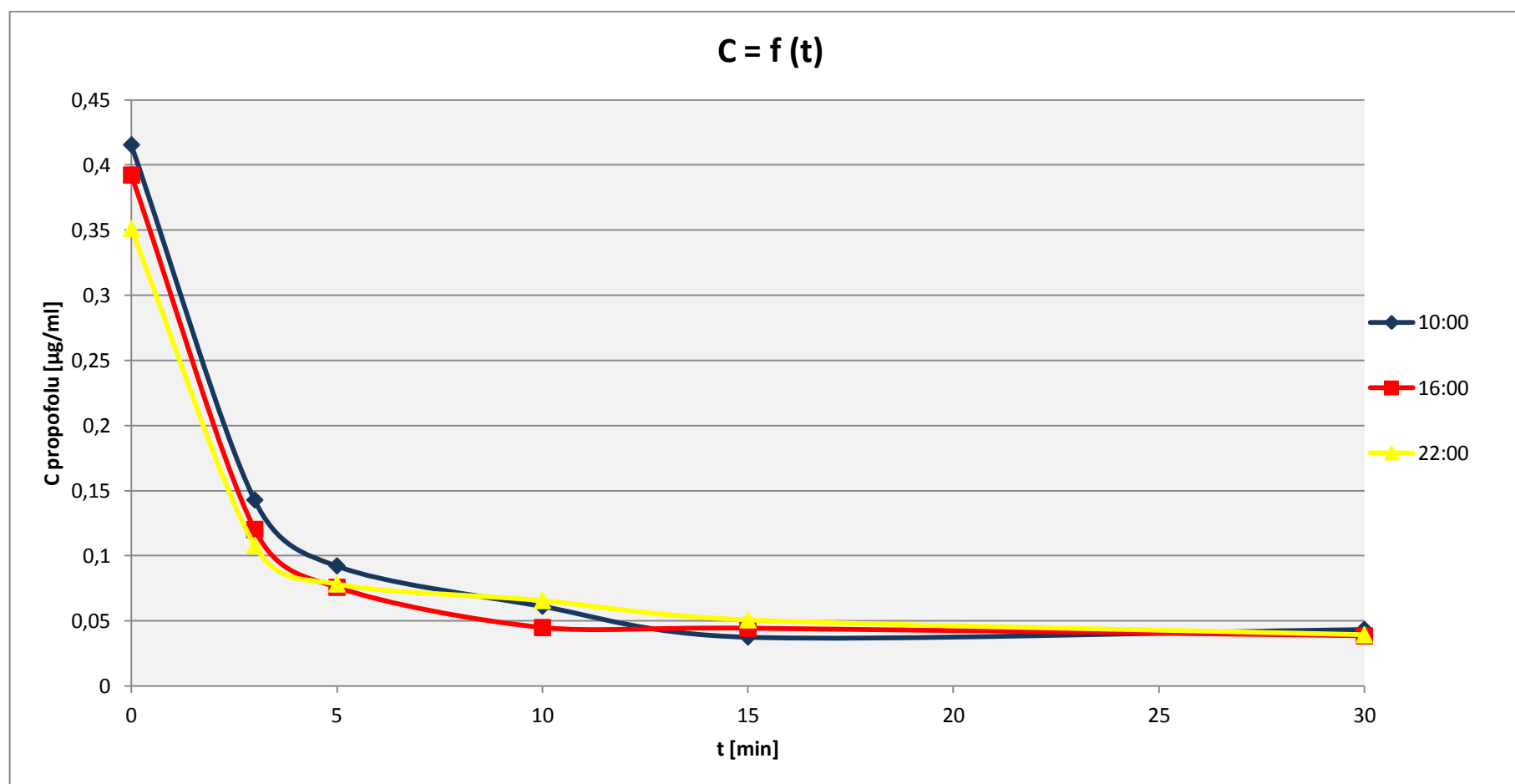




Tabela 41

Parametry farmakokinetyczne propofolu w analizie chronofarmakokinetycznej – godzina 10:00

PARAMETR	K nr 1	K nr 2	K nr 3	K nr 4	K nr 5	K nr 6	K nr 6A	K nr 7A	K nr 8	K nr 9	S	SD	CV%
<b>ke</b> (min <sup>-1</sup> )	0,06	0,01	0,03	0,06	0,07	0,06	0,06	0,05	0,02	0,06	0,048	0,020	42,583
<b>t<sub>0,5</sub></b> (min)	11,44	85,68	21,38	11,85	10,13	12,19	12,43	14,07	33,78	11,19	22,414	23,370	104,267
<b>AUC</b>	5,70	9,51	7,74	5,26	5,41	7,12	2,56	9,68	9,78	6,51	6,927	2,331	33,657
<b>AUMC</b>	72,45	286,07	119,26	54,50	49,89	74,67	29,49	142,33	182,00	63,86	107,452	78,325	72,893
<b>MRT</b>	12,72	30,09	15,40	10,37	9,23	10,49	11,52	14,70	18,61	9,80	14,293	6,284	43,966
<b>Cl</b> [l/min]	4,30	2,05	2,07	3,62	3,05	2,39	6,25	1,86	1,74	2,53	2,986	1,410	47,210
<b>Vd</b> [l]	71,02	253,59	63,73	61,81	44,62	42,02	112,05	37,74	84,75	40,91	81,224	64,853	79,844
<b>Cl/kg</b>	0,88	0,53	0,65	0,95	0,92	0,70	1,95	0,52	0,51	0,77	0,838	0,424	50,631
<b>Vd/kg</b>	14,49	65,02	19,92	16,27	13,52	12,36	35,02	10,48	24,93	12,40	22,441	16,700	74,419

Tabela 42

Parametry farmakokinetyczne propofolu w analizie chronofarmakokinetycznej – godzina 16:00

PARAMETR	K nr 1	K nr 2	K nr 3	K nr 4	K nr 5	K nr 6	K nr 7A	K nr 8	K nr 9	S	SD	CV%
<b>ke</b> (min <sup>-1</sup> )	0,03	0,02	0,04	0,02	0,02	0,01	0,05	0,04	0,03	0,029	0,013	43,937
<b>t<sub>0,5</sub></b> (min)	25,97	28,33	16,79	28,14	32,70	84,08	14,00	19,31	22,97	30,254	21,060	69,608
<b>AUC</b>	9,93	6,47	7,69	6,40	8,26	6,89	2,55	6,67	5,28	6,682	2,039	30,515
<b>AUMC</b>	164,56	124,78	160,10	109,73	161,57	183,67	36,97	52,46	61,49	117,259	55,131	47,016
<b>MRT</b>	16,57	19,29	20,82	17,15	19,56	26,66	14,51	7,87	11,64	17,119	5,455	31,866
<b>Cl</b> [l/min]	2,47	3,09	2,08	2,74	2,12	2,54	7,06	2,78	3,41	3,143	1,529	48,645
<b>Vd</b> [l]	92,44	126,39	50,43	111,08	99,96	308,23	142,65	77,33	112,97	124,609	73,946	59,342
<b>Cl/kg</b>	0,50	0,77	0,65	0,78	0,61	0,73	1,96	0,75	0,95	0,856	0,433	50,572
<b>Vd/kg</b>	18,87	31,60	15,76	31,74	28,56	88,07	39,62	20,90	31,38	34,056	21,609	63,453

Tabela 43

Parametry farmakokinetyczne propofolu w analizie chronofarmakokinetycznej – godzina 22:00

PARAMETR	K nr 1	K nr 2	K nr 3	K nr 4	K nr 5	K nr 6A	K nr 7	K nr 8	K nr 9	S	SD	CV%
<b>ke</b> (min <sup>-1</sup> )	0,03	0,01	0,04	0,02	0,05	0,04	0,01	0,01	0,02	0,026	0,015	59,057
<b>t<sub>0,5</sub></b> (min)	21,51	54,05	16,22	37,10	14,31	16,87	77,05	87,66	32,10	39,652	27,417	69,144
<b>AUC</b>	7,24	7,90	7,11	6,97	9,83	7,26	10,00	9,25	8,04	8,178	1,205	14,735
<b>AUMC</b>	123,39	96,52	103,70	173,52	127,44	105,79	225,40	271,56	151,51	153,203	60,312	39,367
<b>MRT</b>	17,05	12,22	14,59	24,91	12,97	14,57	22,55	29,36	18,84	18,562	5,899	31,778
<b>Cl</b> [l/min]	3,59	2,02	2,39	2,51	1,88	2,27	1,45	1,73	2,05	2,210	0,613	27,751
<b>Vd [l]</b>	111,50	157,93	55,99	134,50	38,86	55,33	161,25	218,80	95,03	114,354	59,565	52,088
<b>Cl/kg</b>	0,69	0,63	0,70	0,72	0,51	0,69	0,50	0,54	0,62	0,622	0,086	13,820
<b>Vd/kg</b>	21,44	49,35	16,47	38,43	10,50	16,77	55,60	68,38	28,80	33,971	20,140	59,286

Tabela 44

Zestawienie średnich wartości parametrów farmakokinetycznych propofolu dla trzech godzin podania: 10:00, 16:00, 22:00

Parametr	Godzina 10:00			Godzina 16:00			Godzina 22:00		
	S	SD	CV%	S	SD	CV%	S	SD	CV%
ke (min <sup>-1</sup> )	<b>0,048</b>	0,02	42,583	<b>0,029</b>	0,013	43,937	<b>0,026</b>	0,015	59,057
t <sub>0,5</sub> (min)	<b>22,414</b>	23,37	104,267	<b>30,254</b>	21,06	69,608	<b>39,652</b>	27,417	69,144
AUC	<b>6,927</b>	2,331	33,657	<b>6,682</b>	2,039	30,515	<b>8,178</b>	1,205	14,735
AUMC	<b>107,452</b>	78,325	72,893	<b>117,259</b>	55,131	47,016	<b>153,203</b>	60,312	39,367
MRT	<b>14,293</b>	6,284	43,966	<b>17,119</b>	5,455	31,866	<b>18,562</b>	5,899	31,778
Cl [l/min]	<b>2,986</b>	1,41	47,21	<b>3,143</b>	1,529	48,645	<b>2,21</b>	0,613	27,751
Vd [l]	<b>81,224</b>	64,853	79,844	<b>124,609</b>	73,946	59,342	<b>114,354</b>	59,565	52,088
Cl/kg	<b>0,838</b>	0,424	50,631	<b>0,856</b>	0,433	50,572	<b>0,622</b>	0,086	13,82
Vd/kg	<b>22,441</b>	16,7	74,419	<b>34,056</b>	21,609	63,453	<b>33,971</b>	20,14	59,286

Tabela 45

Wyniki testu T dla dwóch zmiennych połączonych

ZMIENNE	P value	Prawdopodobieństwo
<b>ke 10:00; ke 16:00</b>	0,0928	mało istotne
<b>t<sub>0,5</sub> 10:00; t<sub>0,5</sub> 16:00</b>	0,5721	mało istotne
<b>AUC 10:00; AUC 16:00</b>	0,6463	mało istotne
<b>CI 10:00; CI 16:00</b>	0,5795	mało istotne
<b>ke 10:00; ke 22:00</b>	0,0132	istotne
<b>t<sub>0,5</sub> 10:00; t<sub>0,5</sub> 22:00</b>	0,0872	mało istotne
<b>AUC 10:00; AUC 22:00</b>	0,5098	mało istotne
<b>CI 10:00; CI 22:00</b>	0,2252	mało istotne
<b>ke 16:00; ke 22:00</b>	0,3355	mało istotne
<b>t<sub>0,5</sub> 16:00; t<sub>0,5</sub> 22:00</b>	0,1324	mało istotne
<b>AUC 16:00; AUC 22:00</b>	0,4508	mało istotne
<b>CI 16:00; CI 22:00</b>	0,2511	mało istotne

Tabela 46

Ocena statystyczna farmakokinetyki propofolu w zależności od godziny podania – dwuczynnikowa analiza wariancji

Parametr farmakokinetyczny	P value	Prawdopodobieństwo
<b><math>k_e</math></b>	0,0190	istotne
<b><math>t_{0,5}</math></b>	0,0697	mało istotne
<b>AUC</b>	0,0594	mało istotne
<b>Cl</b>	0,3763	mało istotne
<b>Vd</b>	0,3196	mało istotne
<b>Cl/kg</b>	0,1330	mało istotne
<b>Vd/kg</b>	0,2408	mało istotne

Tabela 47

Ocena statystyczna farmakokinetyki propofolu – wyniki testu najmniejszej istotnej różnicy dla stałej eliminacji  $k_e$

Zmienne zależne	P value	Prawdopodobieństwo
<b><math>k_e</math> 10:00; <math>k_e</math> 16:00</b>	0,0213	istotne
<b><math>k_e</math> 10:00; <math>k_e</math> 22:00</b>	0,0078	wysoce istotne
<b><math>k_e</math> 16:00; <math>k_e</math> 22:00</b>	0,6570	mało istotne

Tabela 48

## Stężenia lidokainy w osoczu królików w etapie I

CZAS [h]	STĘŻENIE [ng/ml]										średnia	SD	%CV
	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	K9	K10			
<b>0,017</b>	391,691	833,876	130,419	-----	267,527	247,038	338,542	74,834	134,666	130,105	283,1887	232,3492	82,0475
<b>0,083</b>	628,364	458,454	644,103	550,252	513,061	863,752	905,613	511,715	401,168	523,427	599,9909	166,3244	27,72116
<b>0,167</b>	682,887	2018,795	826,603	883,729	438,947	709,222	772,758	665,097	335,317	692,366	802,5721	458,486	57,12708
<b>0,250</b>	1473,286	-----	811,819	678,713	437,168	605,218	689,901	422,304	288,805	564,246	663,4956	343,0974	51,71058
<b>0,500</b>	627,051	295,055	444,893	472,128	379,362	615,163	736,1	328,177	355,66	423,379	467,6968	145,7968	31,17335
<b>1,000</b>	420,723	384,808	302,603	398,289	123,009	176,522	235,624	257,015	214,985	300,025	281,3603	98,74306	35,09488
<b>1,500</b>	223,036	-----	168,36	292,212	53,589	61,556	157,671	182,621	160,079	202,998	166,9024	74,56133	44,6736
<b>2,000</b>	180,247	189,742	125,529	257,013	11,722	-----	85,785	133,204	117,161	117,586	122,2571	77,20836	63,15245
<b>2,500</b>	125,079	118,244	73,515	-----	10,573	-----	56,837	111,007	80,534	106,451	84,655	39,82228	47,04068
<b>3,000</b>	109,812	58,251	43,073	39,595	-----	-----	33,197	85,038	64,712	79,165	57,50178	31,47795	54,74257
<b>4,000</b>	57,848	36,685	33,216	-----	-----	-----	11,283	52,813	60,87	60,872	44,36957	19,50747	43,96588

Tabela 49

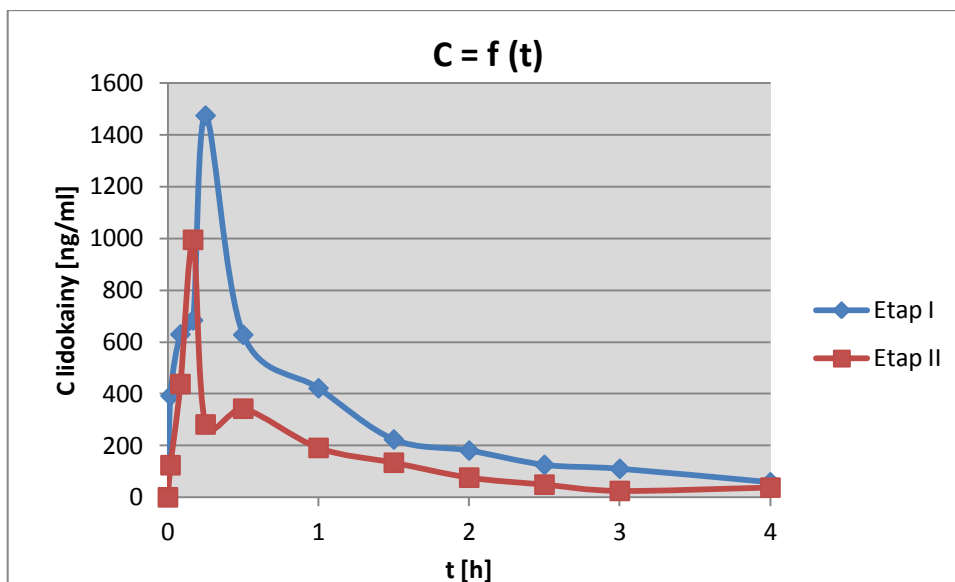
## Stężenia lidokainy w osoczu królików w etapie II

CZAS [h]	STĘŻENIE [ng/ml]								średnia	SD	%CV
	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8			
<b>0,017</b>	123,804	151,557	370,387	291,724	254,423	47,047	299,654	127,900	208,312	111,1824	53,37301
<b>0,083</b>	436,939	433,801	559,164	836,583	349,440	1038,123	1074,153	486,173	651,797	288,567	44,27253
<b>0,167</b>	993,740	560,307	816,416	755,989	392,125	672,649	974,552	642,339	726,0146	203,9991	28,09848
<b>0,250</b>	281,091	475,220	1001,279	1043,606	328,857	541,137	583,852	630,612	610,7068	280,9037	45,9965
<b>0,500</b>	341,940	352,959	757,874	436,616	186,917	499,912	509,167	496,242	447,7034	166,2013	37,12309
<b>1,000</b>	190,603	219,423	364,583	369,766	105,466	334,049	-----	281,962	266,550	99,15864	37,20072
<b>1,500</b>	133,380	159,648	237,171	162,146	112,663	191,825	137,905	144,641	159,9224	38,99886	24,38612
<b>2,000</b>	75,887	143,315	134,757	152,718	100,474	146,667	178,632	89,255	127,7131	35,41026	27,7264
<b>2,500</b>	48,705	84,513	117,326	110,714	-----	-----	317,574	82,739	126,9285	96,51065	76,03544
<b>3,000</b>	24,434	53,925	100,084	65,814	34,215	-----	100,121	49,794	61,19814	29,75189	48,61568
<b>4,000</b>	37,378	40,360	40,690	65,399	-----	62,203	-----	10,835	42,14417	21,06132	49,97446



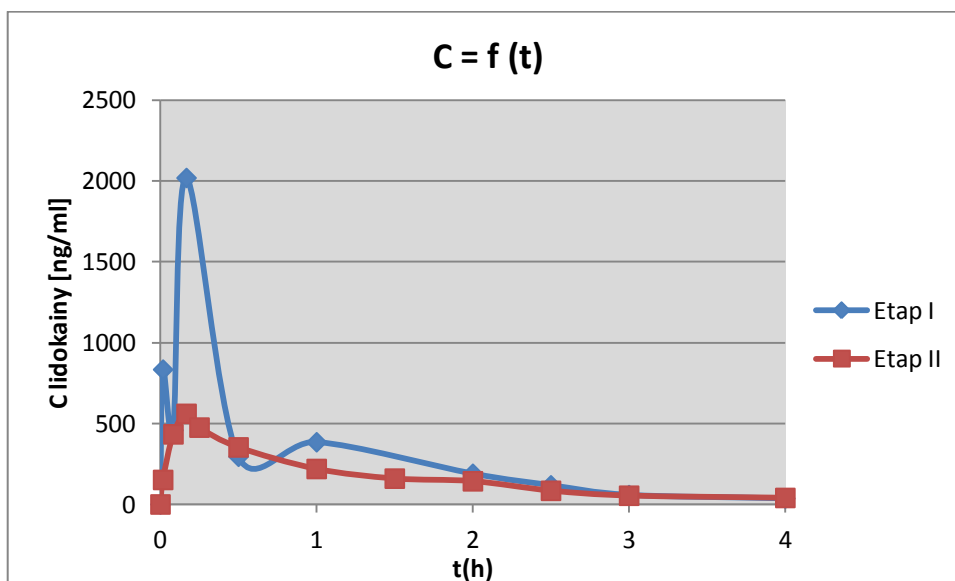
Wykres 15

Zmiany stężenia lidokainy w czasie w osoczu królika nr 1 w etapie I i II



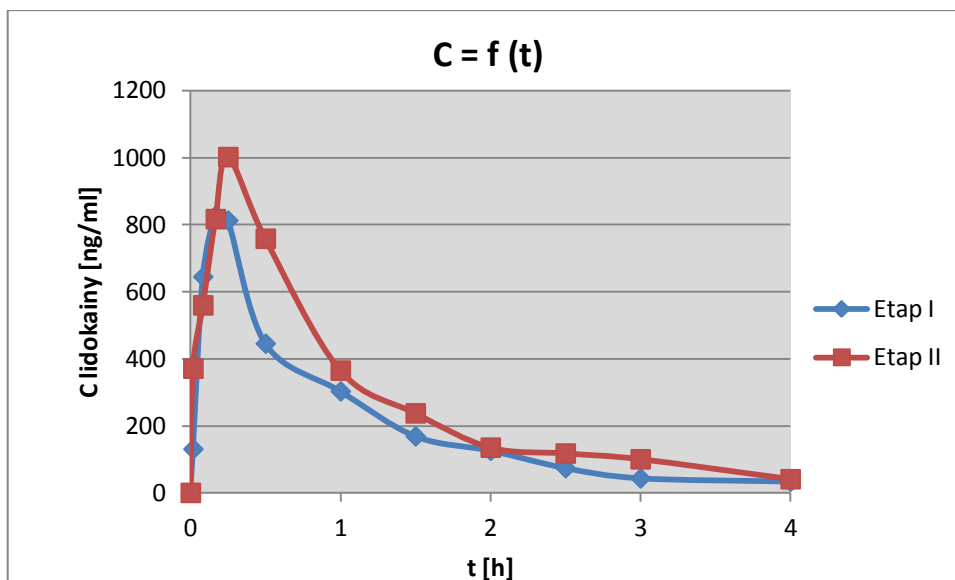
Wykres 16

Zmiany stężenia lidokainy w czasie w osoczu królika nr 2 w etapie I i II



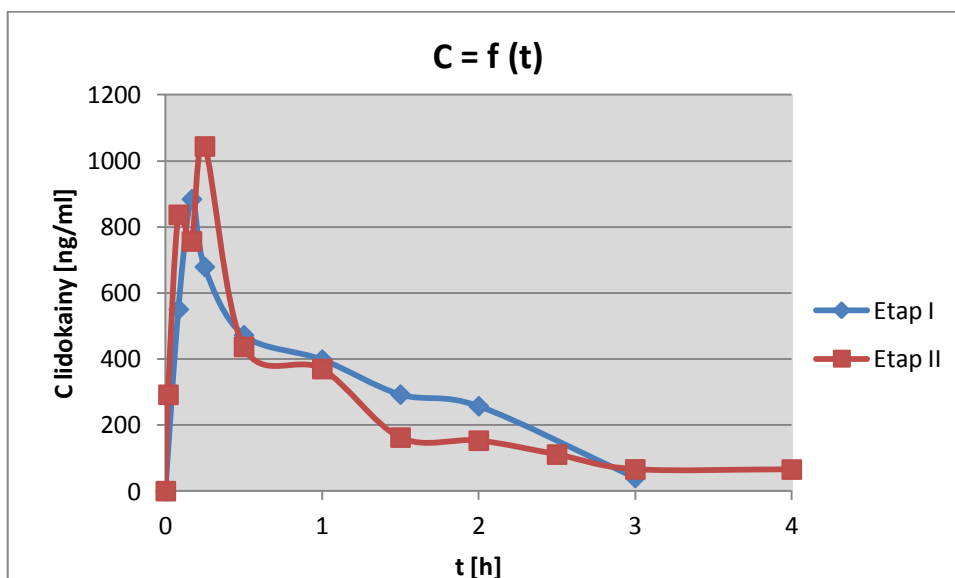
Wykres 17

Zmiany stężenia lidokainy w czasie w osoczu królika nr 3 w etapie I i II



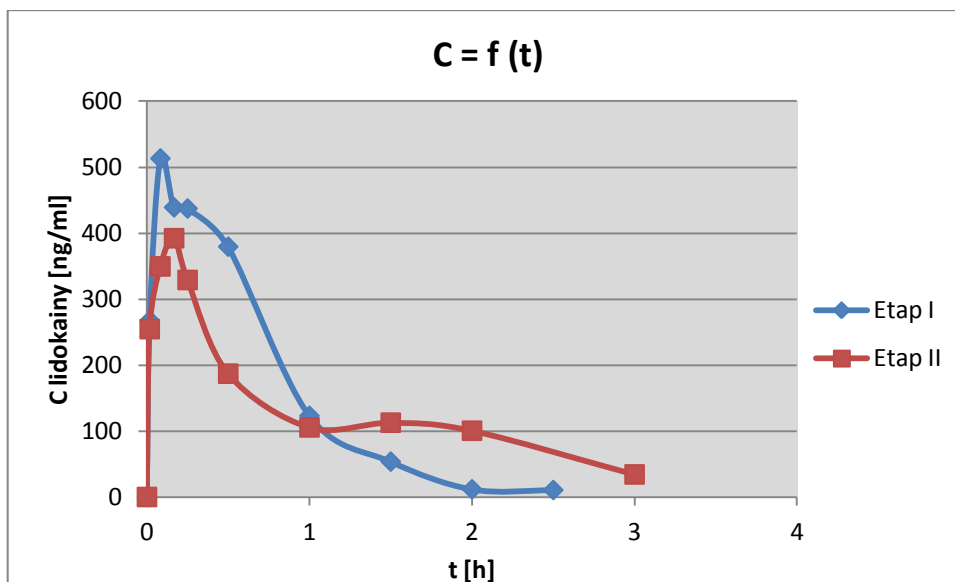
Wykres 18

Zmiany stężenia lidokainy w czasie w osoczu królika nr 4 w etapie I i II



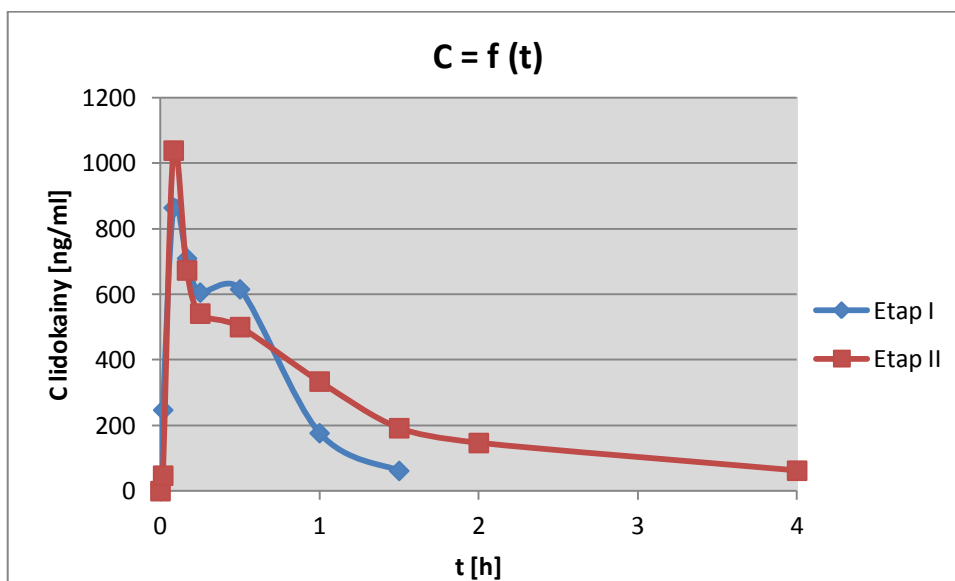
Wykres 19

Zmiany stężenia lidokainy w czasie w osoczu królika nr 5 w etapie I i II



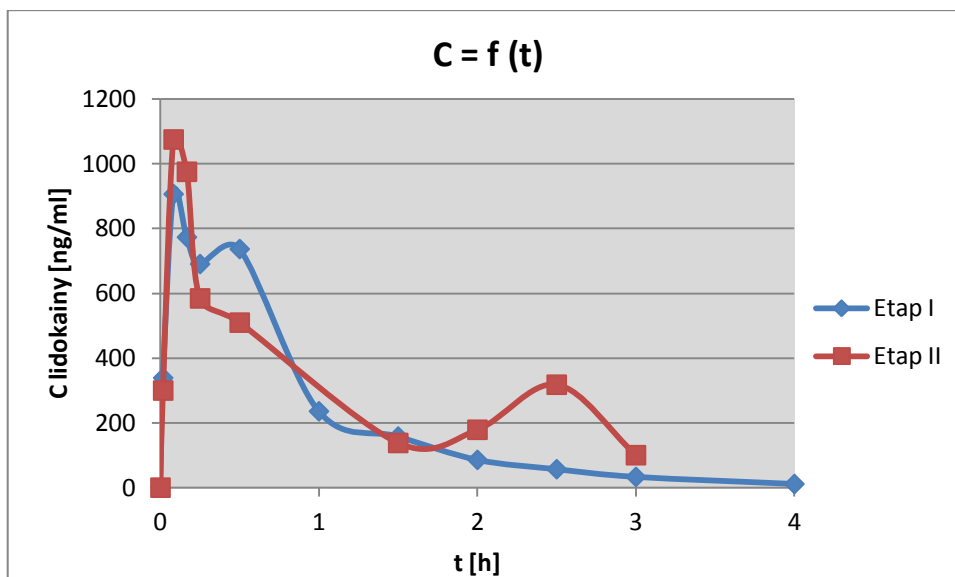
Wykres 20

Zmiany stężenia lidokainy w czasie w osoczu królika nr 6 w etapie I i II



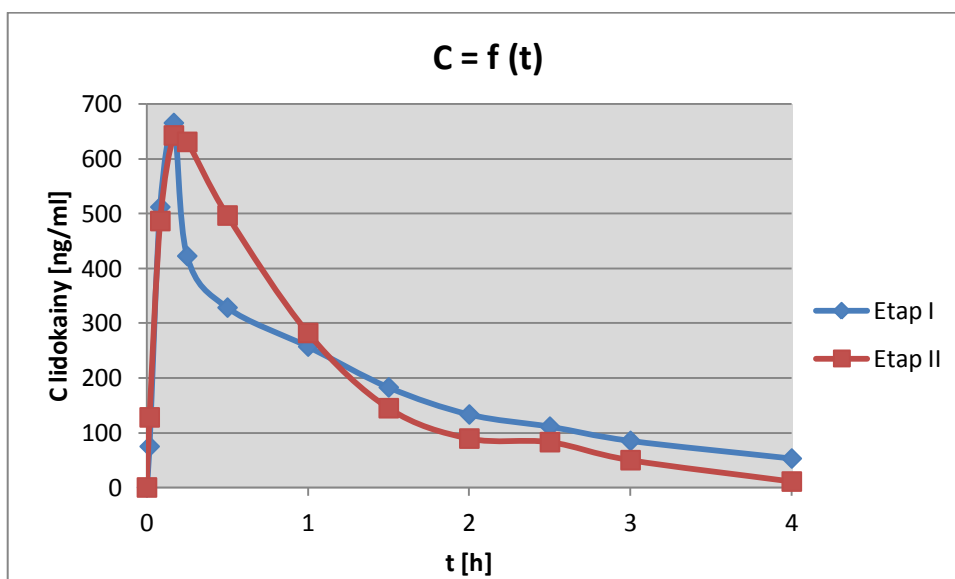
Wykres 21

Zmiany stężenia lidokainy w czasie w osoczu królika nr 7 w etapie I i II



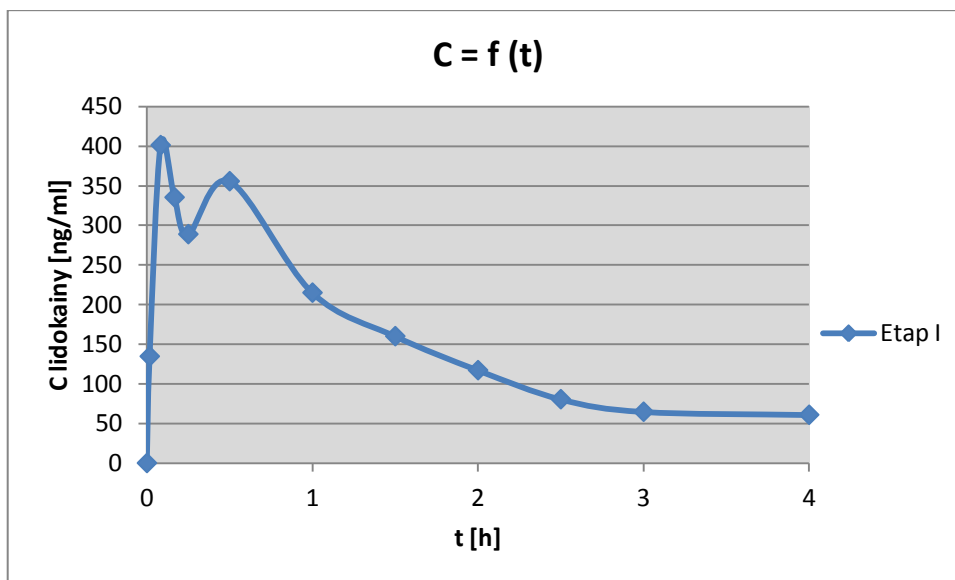
Wykres 22

Zmiany stężenia lidokainy w czasie w osoczu królika nr 8 w etapie I i II



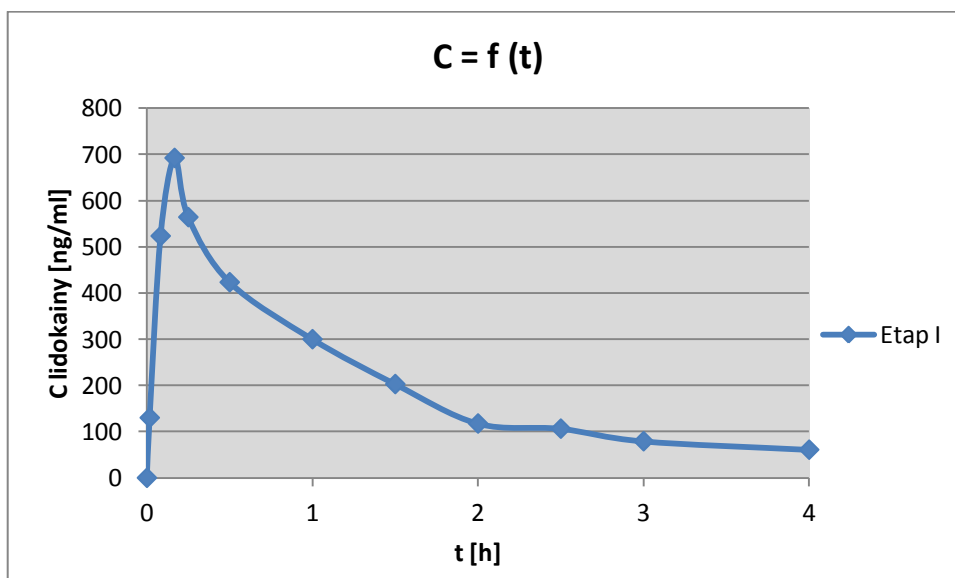
Wykres 23

Zmiany stężenia lidokainy w czasie w osoczu królika nr 9 w etapie I



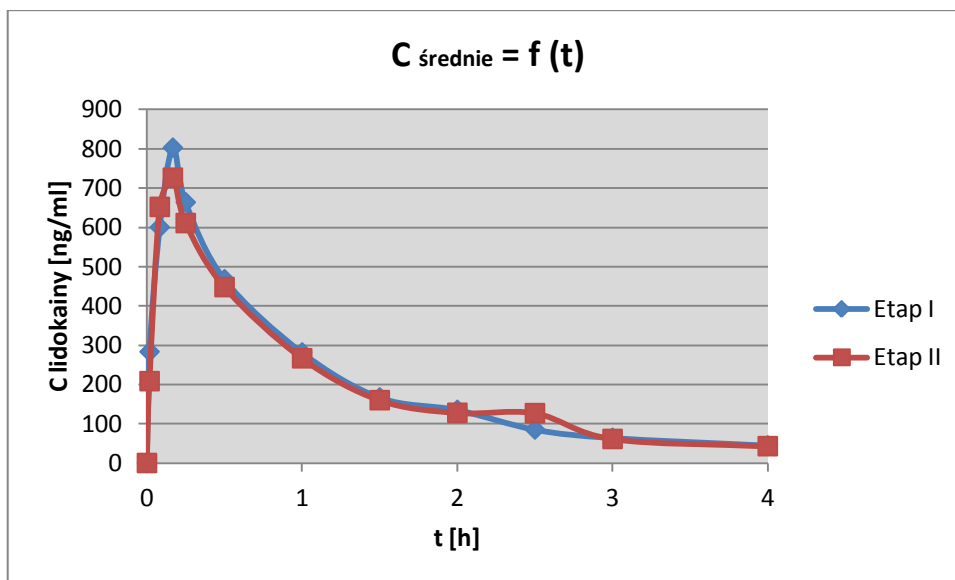
Wykres 24

Zmiany stężenia lidokainy w czasie w osoczu królika nr 10 w etapie I



Wykres 25

Zmiany średnich stężeń lidokainy w czasie w osoczu królików w etapie I i II



Wykres 26

Wartości średnich stężeń lidokainy w etapie I i II oraz ich odchylenia standardowe

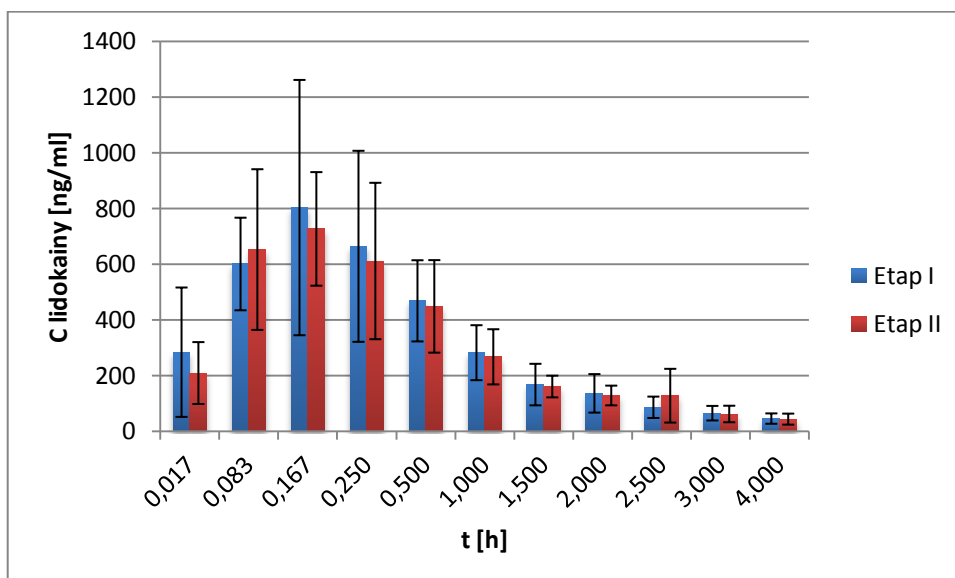


Tabela 50

## Stężenia bupiwakainy w osoczu królików w etapie I

CZAS [h]	STĘŻENIE [ng/ml]										średnia	SD	%CV
	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	K9	K10			
<b>0,017</b>	84,700	-----	14,898	31,230	-----	22,890	17,582	-----	-----	-----	34,260	28,878	84,290
<b>0,050</b>	72,482	-----	50,994	78,645	84,588	49,772	22,750	66,080	-----	-----	60,759	21,269	35,006
<b>0,083</b>	81,565	-----	-----	158,289	56,593	54,989	61,470	91,908	68,892	167,194	92,613	45,109	48,707
<b>0,167</b>	78,212	-----	30,883	113,520	48,620	61,492	57,650	90,596	87,686	121,015	76,630	29,827	38,924
<b>0,250</b>	95,420	24,889	26,538	178,289	110,602	118,949	55,682	112,743	94,215	108,171	92,550	46,346	50,077
<b>0,500</b>	86,238	59,240	43,029	-----	93,730	253,642	85,550	155,795	89,668	78,333	105,025	63,652	60,606
<b>0,750</b>	-----	93,031	54,864	-----	261,177	154,232	89,257	36,341	210,774	145,095	130,596	77,449	59,304
<b>1,000</b>	114,067	138,700	198,646	121,079	167,763	193,574	107,958	61,335	194,483	141,621	143,923	44,901	31,198
<b>2,000</b>	108,264	157,594	73,304	101,190	188,469	227,239	228,952	77,294	169,188	112,452	144,395	58,208	40,312
<b>3,000</b>	150,134	147,762	18,979	71,580	98,719	302,140	-----	71,311	123,706	80,859	118,354	80,427	67,955
<b>4,000</b>	103,255	27,411	60,092	88,854	-----	202,005	138,070	38,562	78,957	55,348	88,062	54,520	61,911
<b>5,000</b>	50,444	69,293	13,400	25,950	66,720	50,517	85,917	31,794	50,784	48,744	49,356	21,576	43,715
<b>6,000</b>	60,421	-----	-----	19,992	41,686	33,193	-----	10,526	41,342	-----	34,527	17,648	51,115

Tabela 51

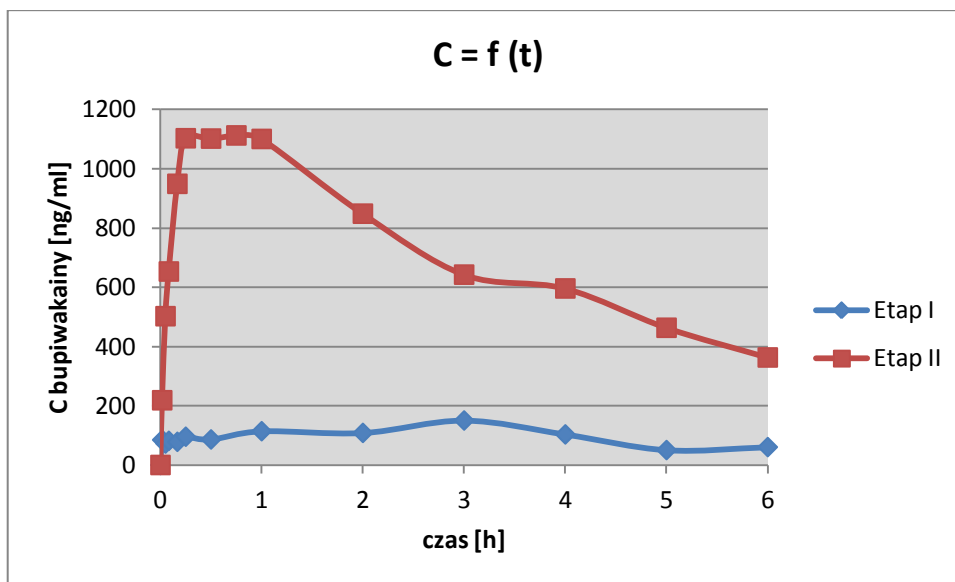
## Stężenia bupiwakainy w osoczu królików w etapie II

CZAS [h]	STĘŻENIE [ng/ml]									Średnia	SD	%CV
	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	K10			
<b>0,017</b>	218,490	-----	104,380	191,922	-----	-----	73,166	-----	-----	98,761	91,988	93,142
<b>0,050</b>	502,125	-----	241,789	288,396	298,195	10,106	145,810	14,134	17,443	189,512	176,148	92,948
<b>0,083</b>	652,925	16,406	241,767	302,735	320,156	10,759	192,281	14,279	16,777	196,454	214,885	109,382
<b>0,167</b>	948,836	12,870	153,981	249,313	242,210	18,728	179,689	29,257	18,642	205,947	295,191	143,333
<b>0,250</b>	1102,571	15,895	156,897	207,702	194,842	24,996	145,647	33,117	40,472	213,571	341,997	160,133
<b>0,500</b>	1101,474	31,017	126,867	152,678	232,223	56,455	141,742	36,254	42,592	213,478	339,814	159,180
<b>0,750</b>	1112,112	-----	122,890	152,422	21,256	-----	77,506	63,039	-----	258,204	420,843	162,988
<b>1,000</b>	1100,239	62,728	109,029	68,200	38,528	65,543	84,389	80,384	132,609	193,517	341,121	176,275
<b>2,000</b>	848,049	62,476	78,837	124,666	23,077	84,437	-----	84,886	46,17	169,075	275,980	163,230
<b>3,000</b>	642,427	84,474	84,656	94,059	11,705	100,110	84,630	88,511	43,736	137,145	191,589	139,698
<b>4,000</b>	595,743	64,703	57,456	72,131	-----	-----	63,520	54,348	45,697	119,331	193,745	162,359
<b>5,000</b>	463,047	45,810	61,279	43,617	-----	859,828	54,212	40,805	24,354	177,216	292,409	165,002
<b>6,000</b>	362,854	40,629	33,702	46,983	-----	29,632	49,412	23,604	10,387	74,650	117,145	156,924



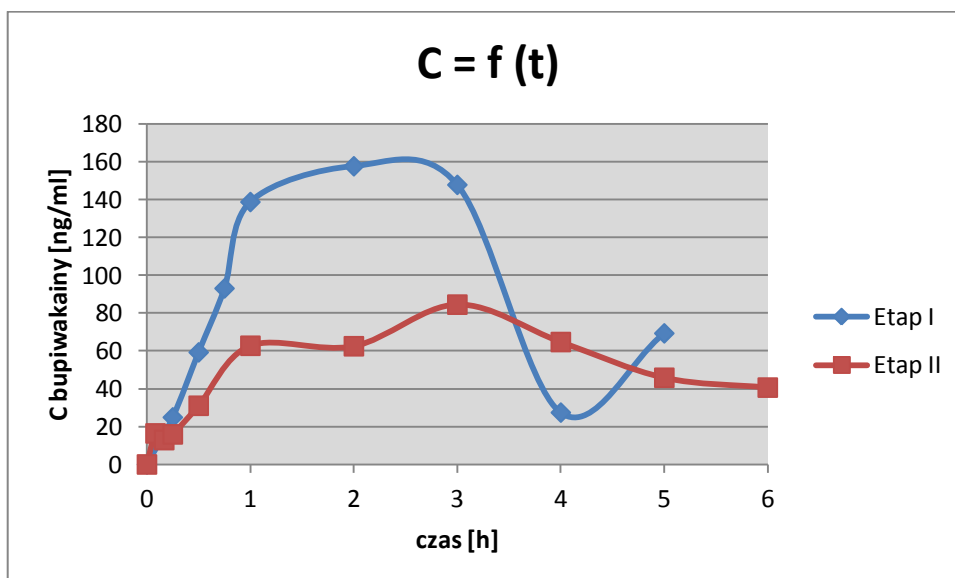
Wykres 27

Zmiany stężeń bupiwakainy w osoczu królika nr 1 w I i II etapie



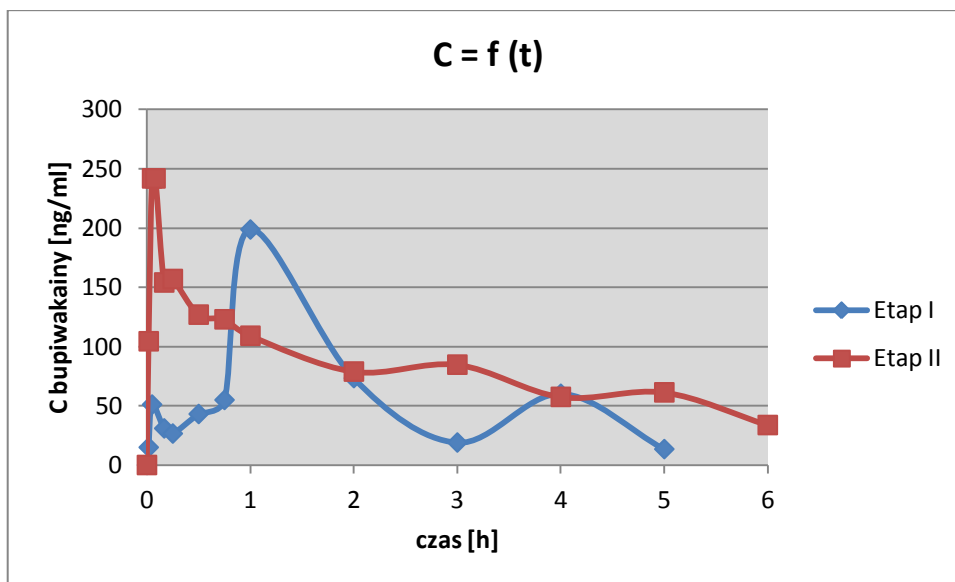
Wykres 28

Zmiany stężeń bupiwakainy w osoczu królika nr 2 w I i II etapie



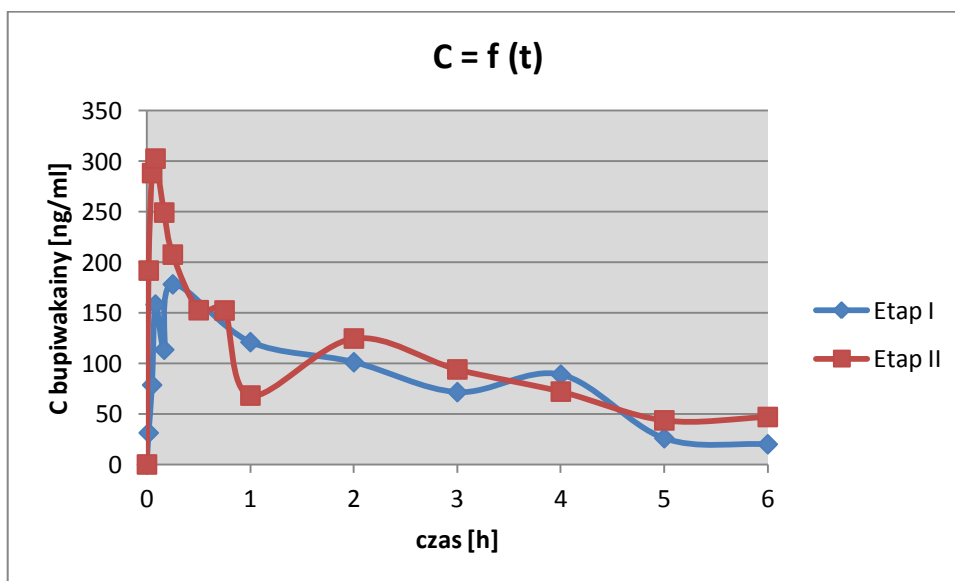
Wykres 29

Zmiany stężeń bupiwakainy w osoczu królika nr 3 w I i II etapie



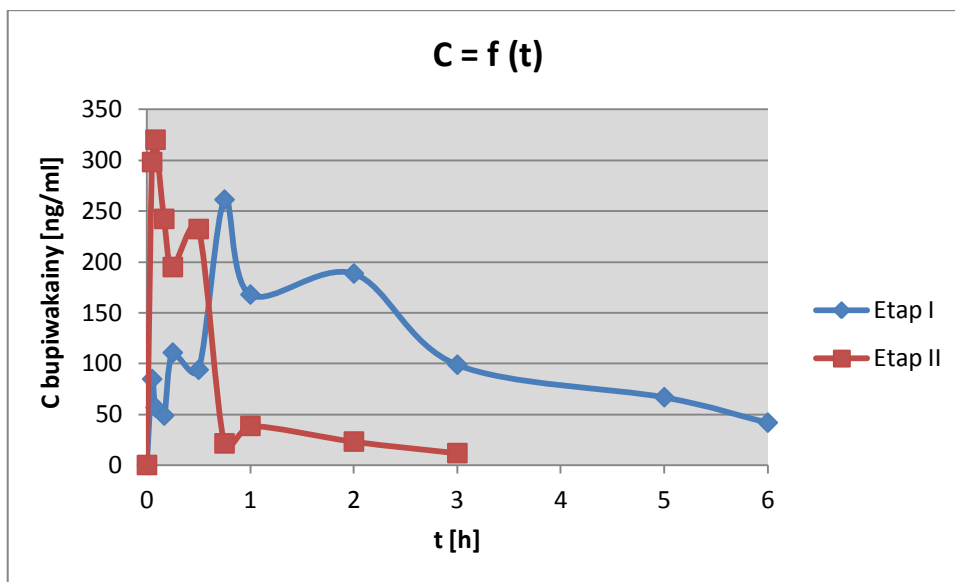
Wykres 30

Zmiany stężeń bupiwakainy w osoczu królika nr 4 w I i II etapie



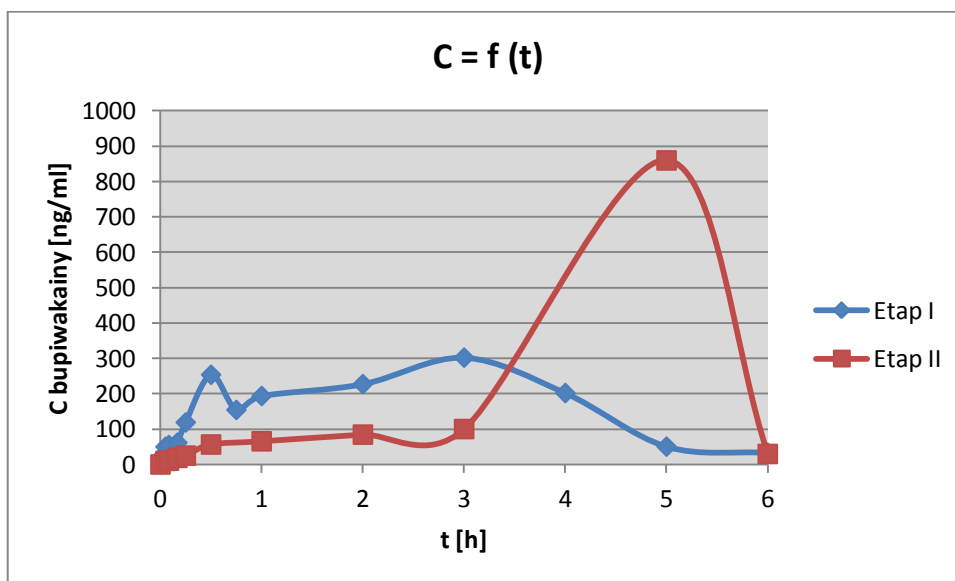
Wykres 31

Zmiany stężeń bupiwakainy w osoczu królika nr 5 w I i II etapie



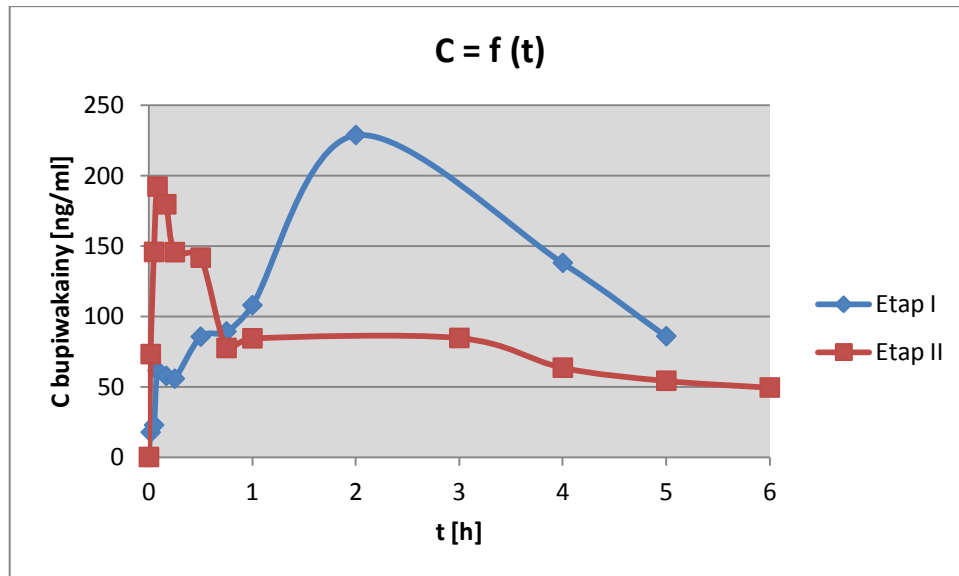
Wykres 32

Zmiany stężeń bupiwakainy w osoczu królika nr 6 w I i II etapie



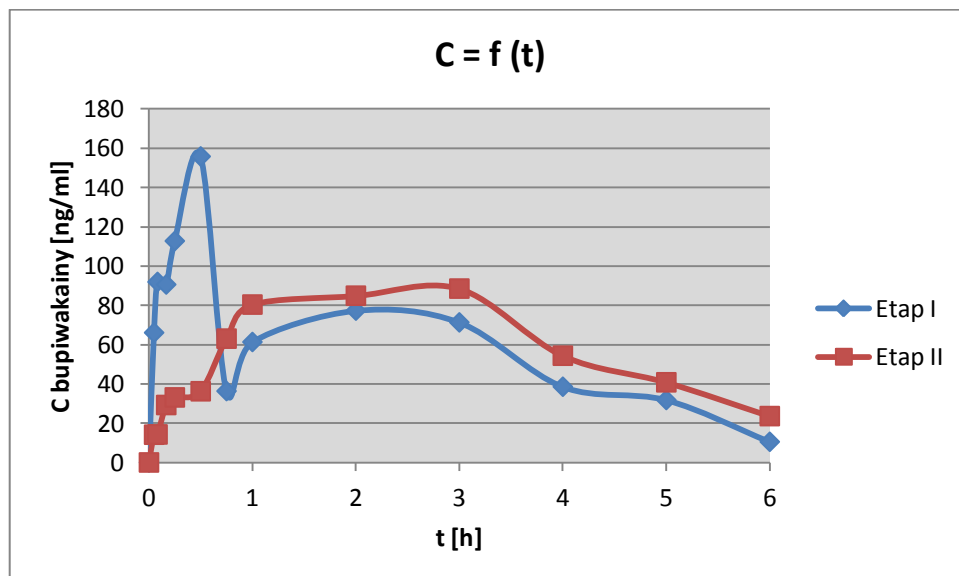
Wykres 33

Zmiany stężeń bupiwakainy w osoczu królika nr 7 w I i II etapie



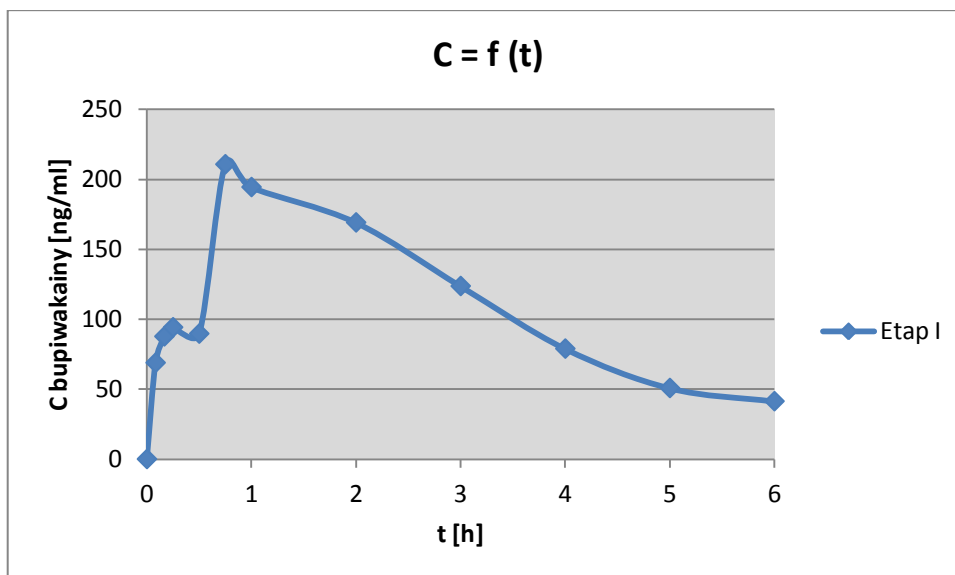
Wykres 34

Zmiany stężeń bupiwakainy w osoczu królika nr 8 w I i II etapie



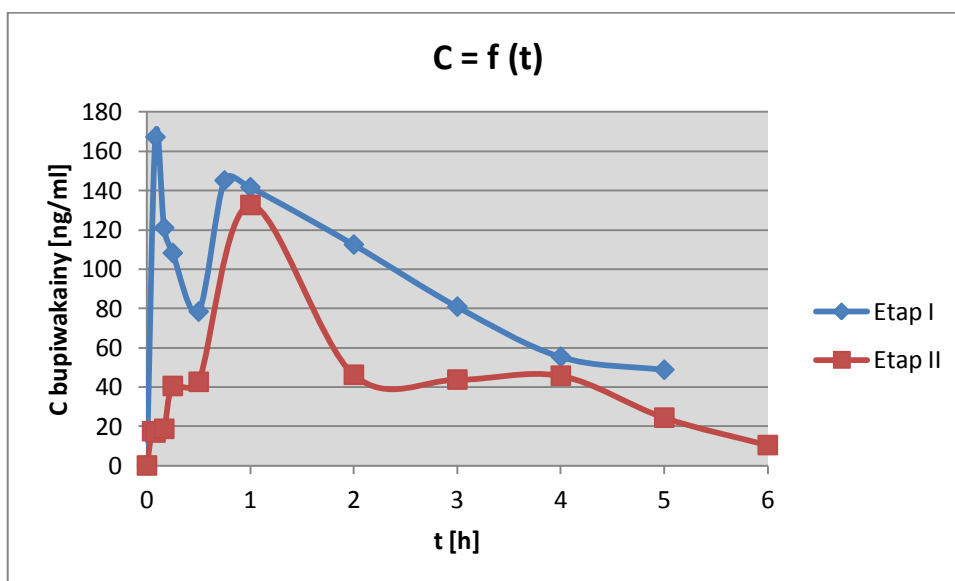
Wykres 35

Zmiany stężeń bupiwakainy w osoczu królika nr 9 w I etapie



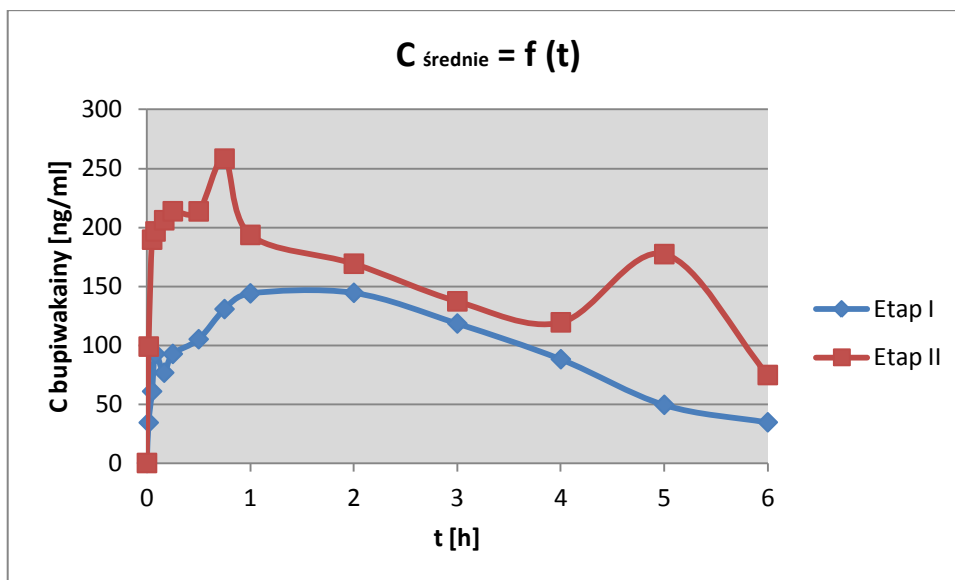
Wykres 36

Zmiany stężeń bupiwakainy w osoczu królika nr 10 w I i II etapie



Wykres 37

Zmiany średnich stężeń bupiwakainy w osoczu królików w I i II etapie



Wykres 38

Średnie stężenia bupiwakainy w osoczu królików w I i II etapie oraz ich odchylenia standardowe

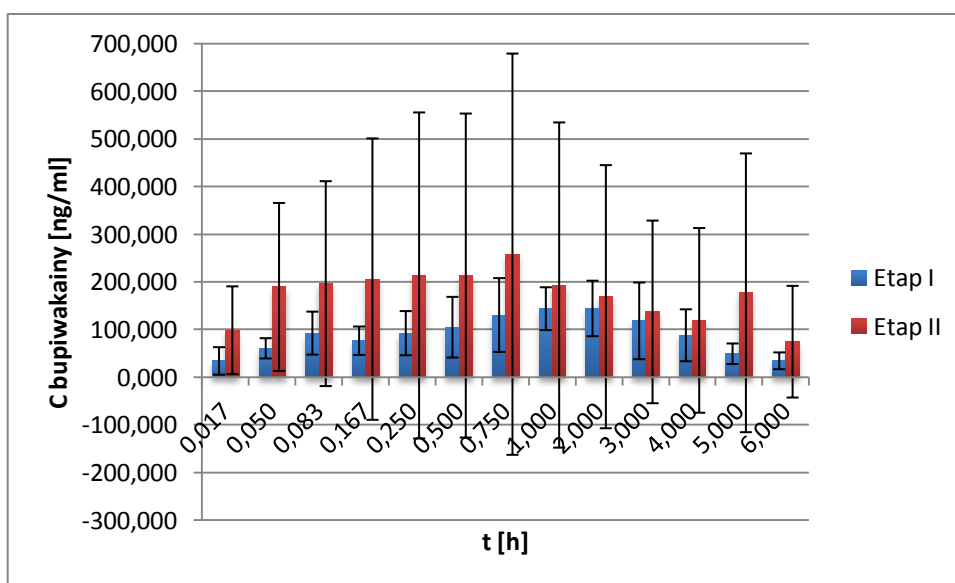


Tabela 52

## Stężenia PPX w osoczu królików w etapie I

CZAS [h]	STĘŻENIE [ng/ml]										średnia	SD	%CV
	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	K9	K10			
<b>0,017</b>	-----	-----	216,075	319,475	-----	91,579	176,192	-----	381,446	239,533	237,383	102,913	43,353
<b>0,050</b>	255,351	-----	234,619	289,722	95,996	182,239	152,354	298,195	396,630	-----	238,138	94,403	39,642
<b>0,083</b>	286,967	248,230	-----	270,237	97,679	199,331	422,763	320,156	400,175	363,449	289,887	102,116	35,226
<b>0,167</b>	223,202	394,263	198,271	247,385	148,445	321,828	644,012	242,210	508,005	272,982	320,060	153,840	48,066
<b>0,250</b>	210,120	462,106	154,188	293,973	249,859	555,784	703,189	194,842	475,173	245,538	354,477	182,935	51,607
<b>0,500</b>	245,758	330,915	514,881	-----	487,038	294,640	342,023	232,223	366,013	123,392	326,320	122,860	37,650
<b>0,750</b>	-----	267,719	144,513	-----	727,491	251,055	282,224	21,256	347,368	95,997	267,203	215,019	80,470
<b>1,000</b>	114,081	312,672	129,116	75,159	287,879	241,394	239,294	38,528	284,696	65,310	178,813	104,651	58,525
<b>2,000</b>	50,572	287,222	-----	19,679	143,411	17,762	134,894	23,077	72,697	33,052	86,930	89,036	102,423
<b>3,000</b>	16,780	208,111	-----	34,286	49,169	-----	-----	11,705	40,623	-----	60,112	73,880	122,903
<b>4,000</b>	11,674	96,848	-----	10,323	-----	-----	40,860	-----	22,351	-----	36,411	35,926	98,666
<b>5,000</b>	-----	146,467	-----	-----	28,720	-----	-----	-----	15,933	-----	63,707	71,957	112,951
<b>6,000</b>	-----	123,043	-----	-----	28,126	-----	-----	-----	-----	-----	75,585	67,116	88,797

Tabela 53

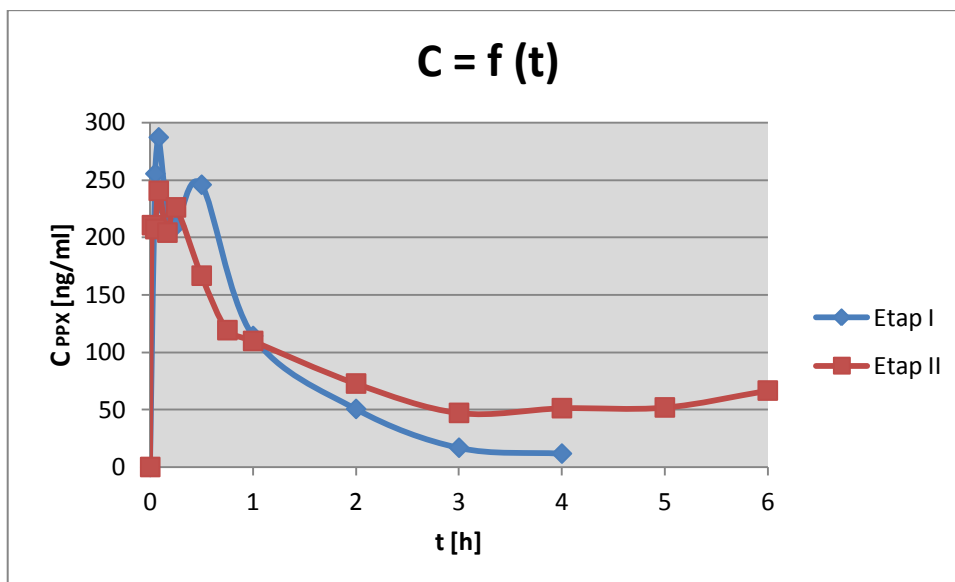
## Stężenia PPX w osoczu królików w etapie II

CZAS [h]	STĘŻENIE [ng/ml]										średnia	SD	%CV
	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	K9	K10			
<b>0,017</b>	210,547	130,115	416,453	391,747	351,005	138,581	-----	120,200	468,892	136,617	262,684	142,528	54,258
<b>0,050</b>	207,105	157,376	373,390	340,850	310,487	155,374	373,184	140,575	-----	174,819	248,129	99,549	40,120
<b>0,083</b>	240,451	180,172	346,070	307,626	271,028	171,316	351,682	168,240	536,713	200,001	277,330	114,702	41,360
<b>0,167</b>	204,052	243,103	297,127	325,125	292,217	232,842	349,722	199,494	463,213	421,436	302,833	89,152	29,439
<b>0,250</b>	226,000	258,709	285,012	257,539	282,743	-----	355,568	226,512	362,396	294,274	283,195	49,218	17,379
<b>0,500</b>	166,579	230,649	234,586	236,270	197,005	274,874	260,539	197,135	248,462	331,442	237,754	46,222	19,441
<b>0,750</b>	119,158	-----	182,498	181,496	224,443	-----	171,703	196,201	164,218	330,397	196,264	61,839	31,508
<b>1,000</b>	109,734	167,469	173,744	159,913	136,095	238,480	227,073	194,101	149,407	308,571	186,459	58,069	31,143
<b>2,000</b>	72,664	65,252	56,692	95,756	52,123	123,860	-----	72,423	81,851	110,639	81,251	24,365	29,987
<b>3,000</b>	47,102	44,773	47,110	79,471	58,302	64,459	103,146	49,394	52,768	75,710	62,224	18,827	30,257
<b>4,000</b>	51,227	36,856	-----	36,963	56,486	48,115	94,067	42,359	77,115	58,531	55,747	19,043	34,159
<b>5,000</b>	51,857	35,883	43,760	44,450	46,451	39,008	34,452	35,315	30,377	48,400	40,995	6,993	17,057
<b>6,000</b>	66,569	15,575	33,550	35,521	28,806	33,486	31,925	29,594	35,790	-----	34,535	13,483	39,041



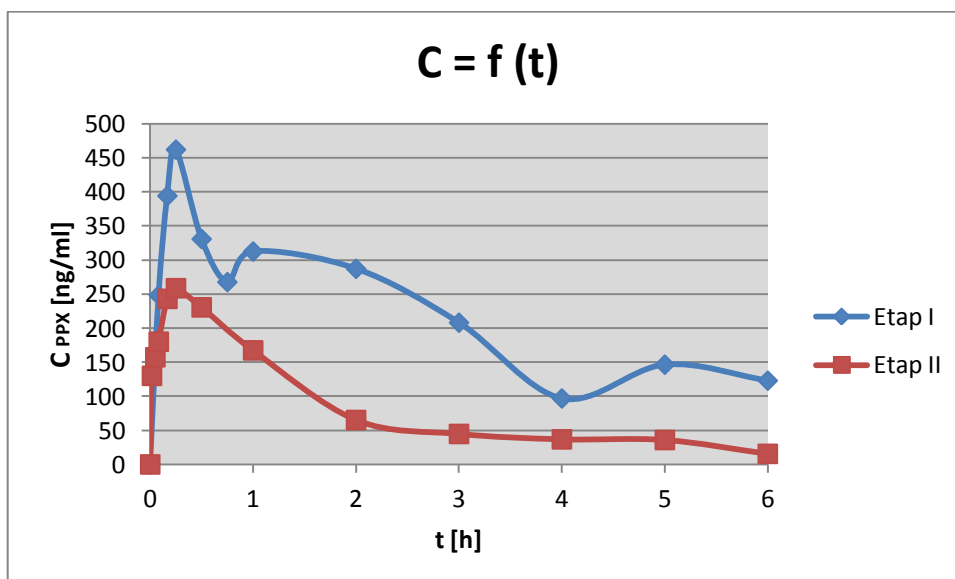
Wykres 39

Zmiany stężenia PPX w czasie w osoczu królika nr 1 w etapie I i II



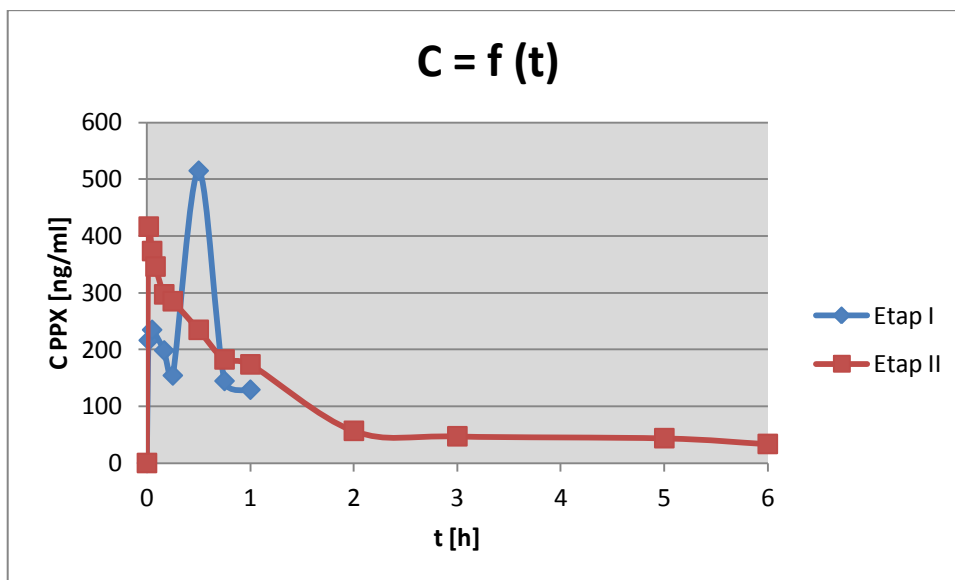
Wykres 40

Zmiany stężenia PPX w czasie w osoczu królika nr 2 w etapie I i II



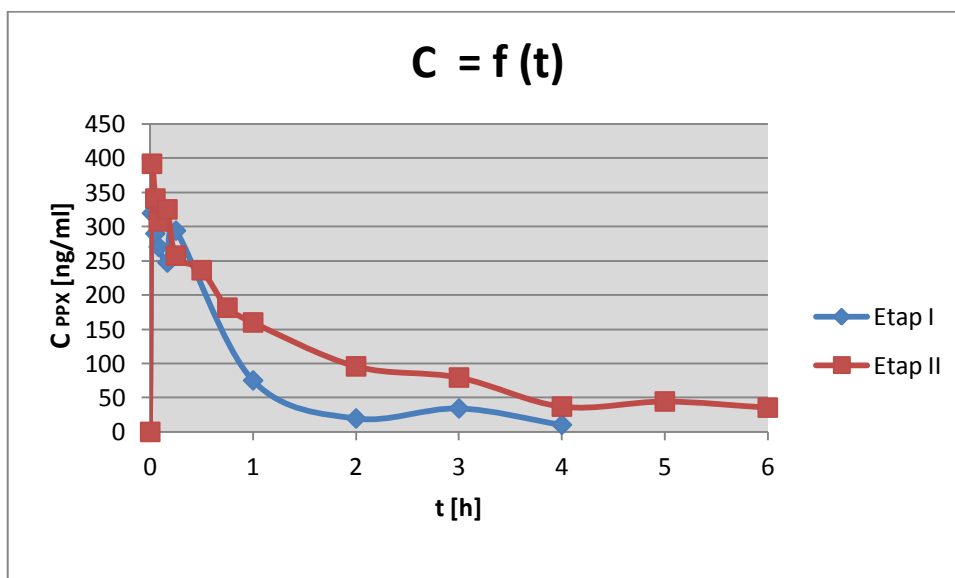
Wykres 41

Zmiany stężenia PPX w czasie w osoczu królika nr 3 w etapie I i II



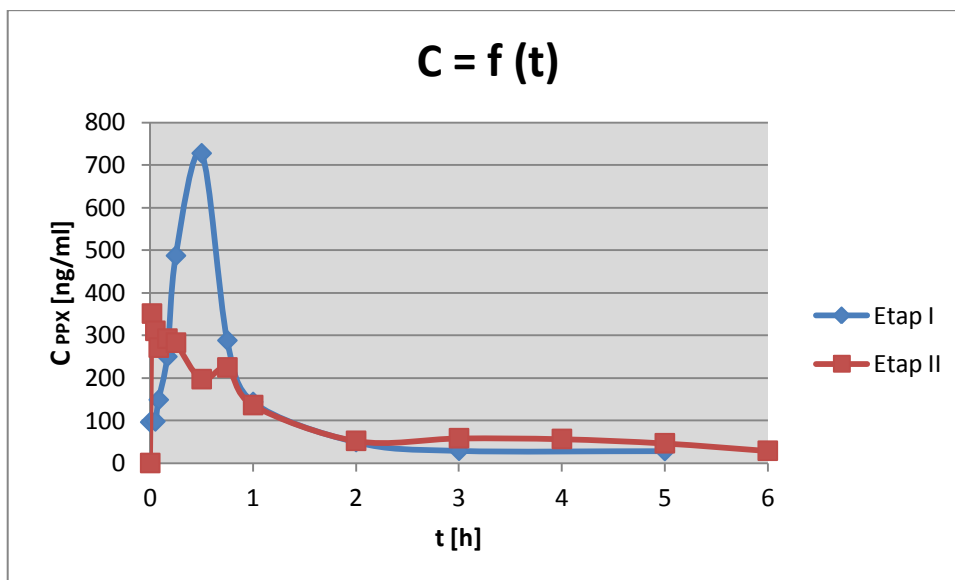
Wykres 42

Zmiany stężenia PPX w czasie w osoczu królika nr 4 w etapie I i II



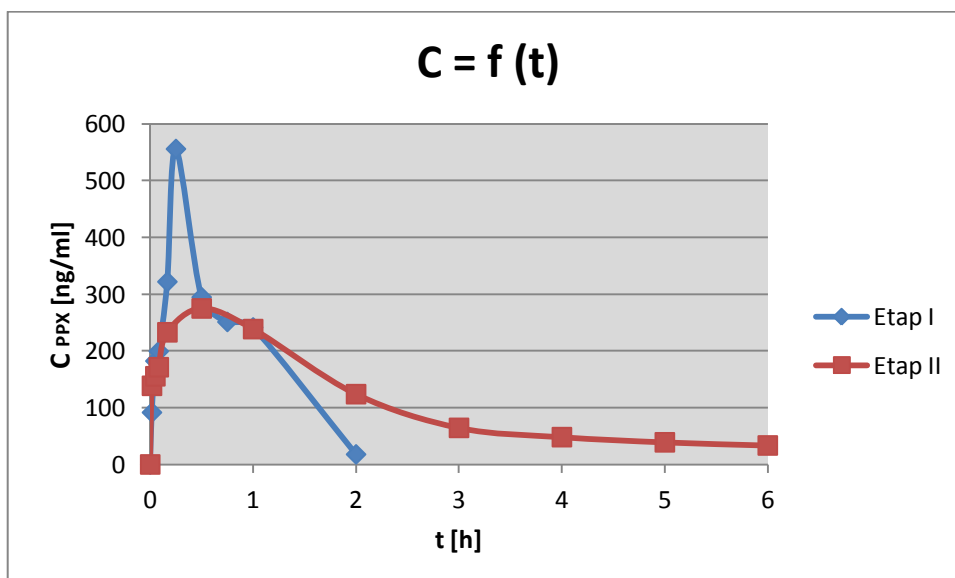
Wykres 43

Zmiany stężenia PPX w czasie w osoczu królika nr 5 w etapie I i II



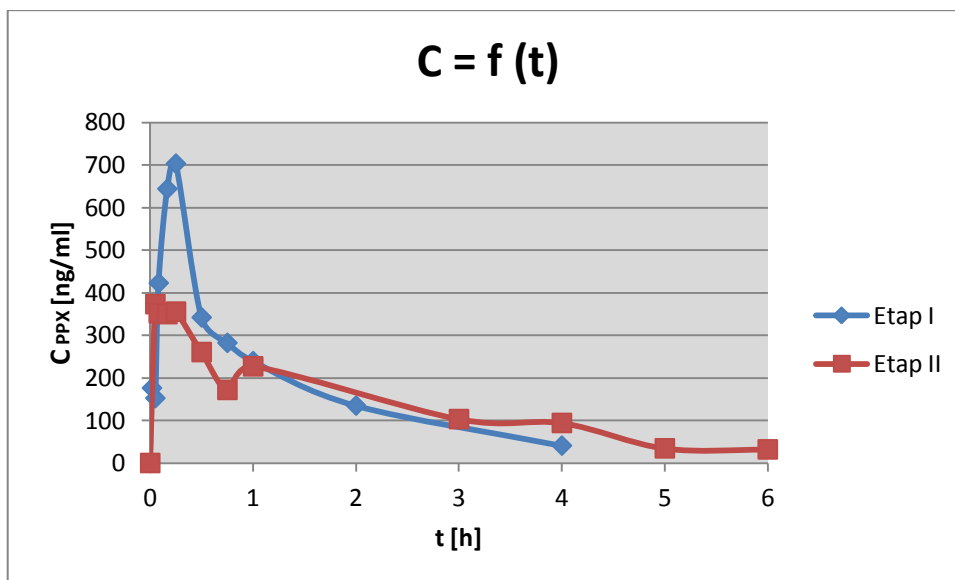
Wykres 44

Zmiany stężenia PPX w czasie w osoczu królika nr 6 w etapie I i II



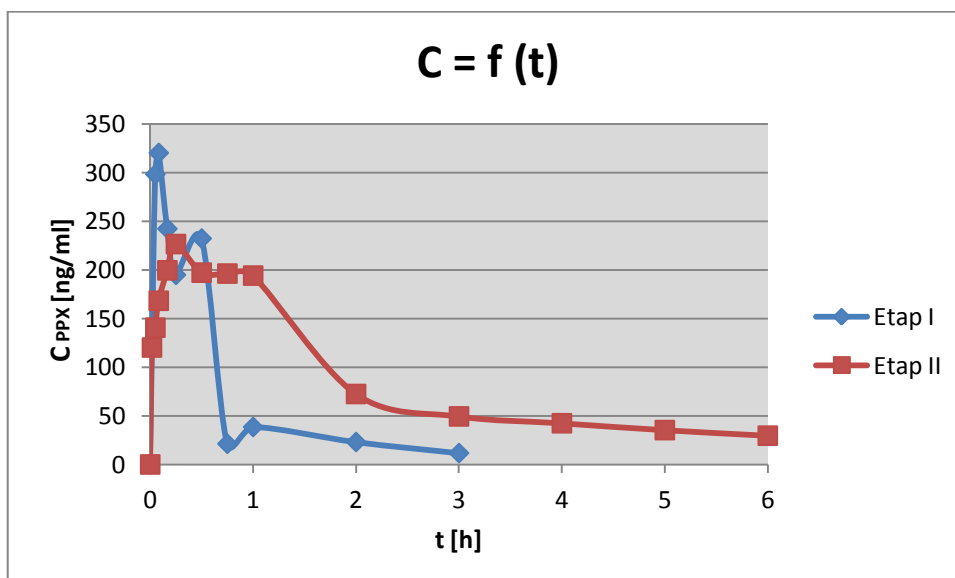
Wykres 45

Zmiany stężenia PPX w czasie w osoczu królika nr 7 w etapie I i II



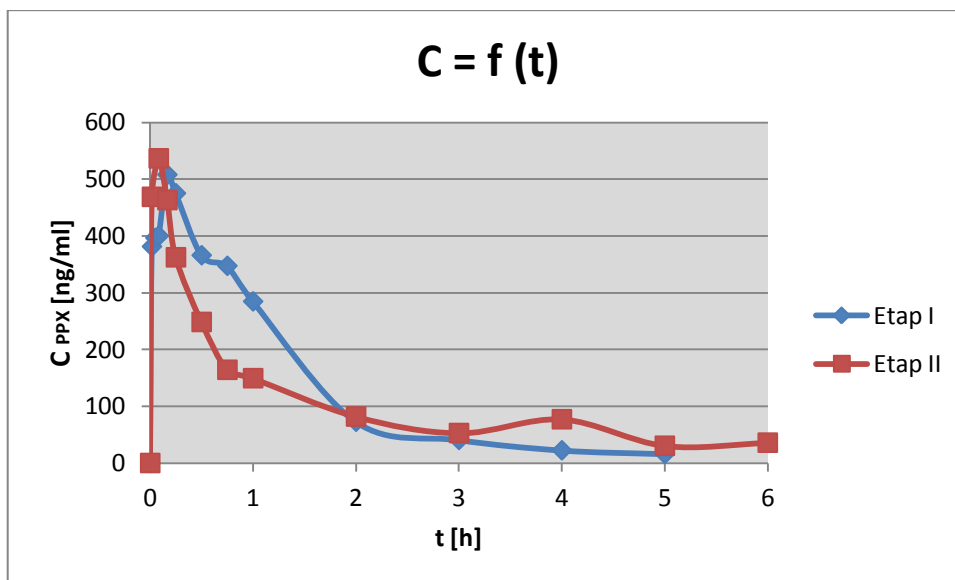
Wykres 46

Zmiany stężenia PPX w czasie w osoczu królika nr 8 w etapie I i II



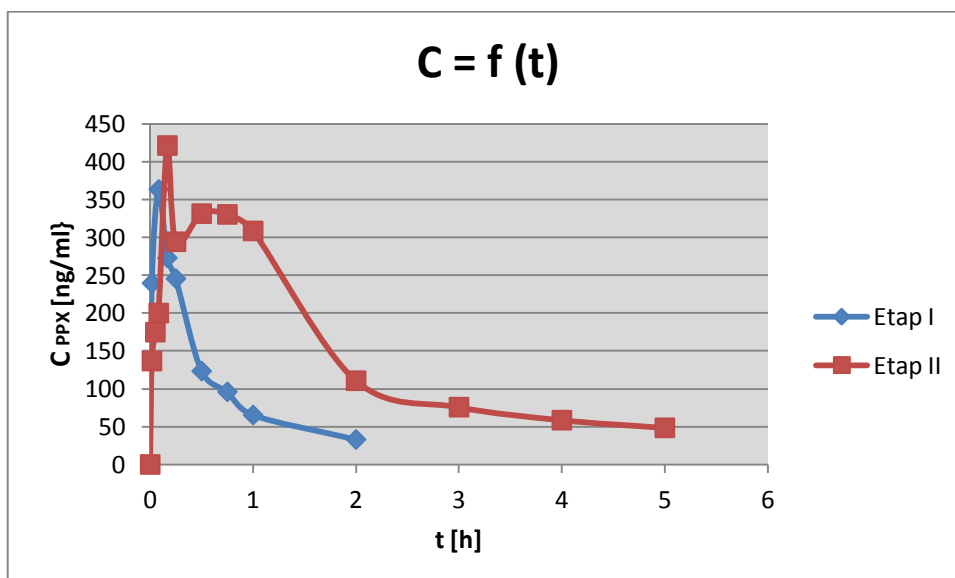
Wykres 47

Zmiany stężenia PPX w czasie w osoczu królika nr 9 w etapie I i II



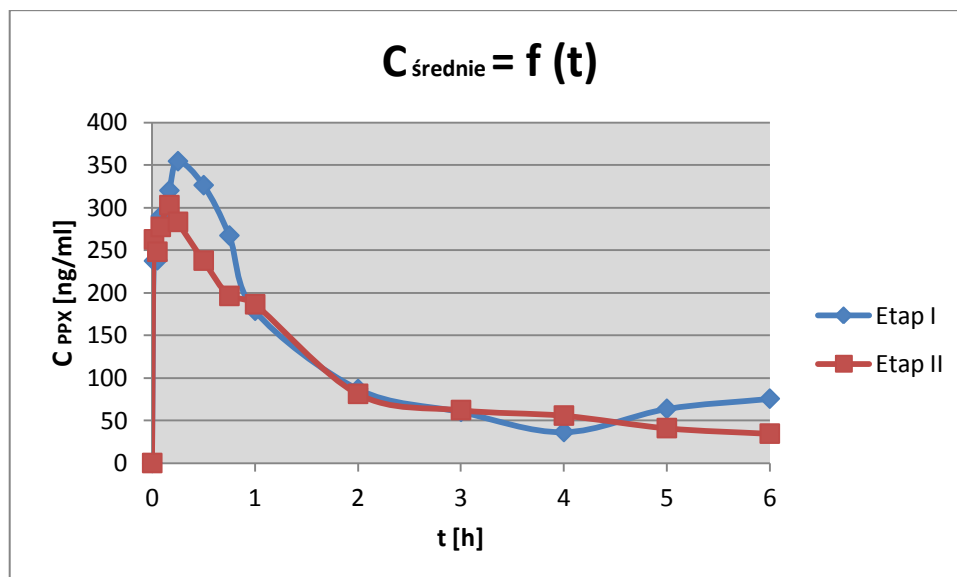
Wykres 48

Zmiany stężenia PPX w czasie w osoczu królika nr 10 w etapie I i II



Wykres 49

Zmiany średnich stężeń PPX w czasie w osoczu królików w etapie I i II



Wykres 50

Wartości średnich stężeń PPX w etapie I i II oraz ich odchylenia standardowe

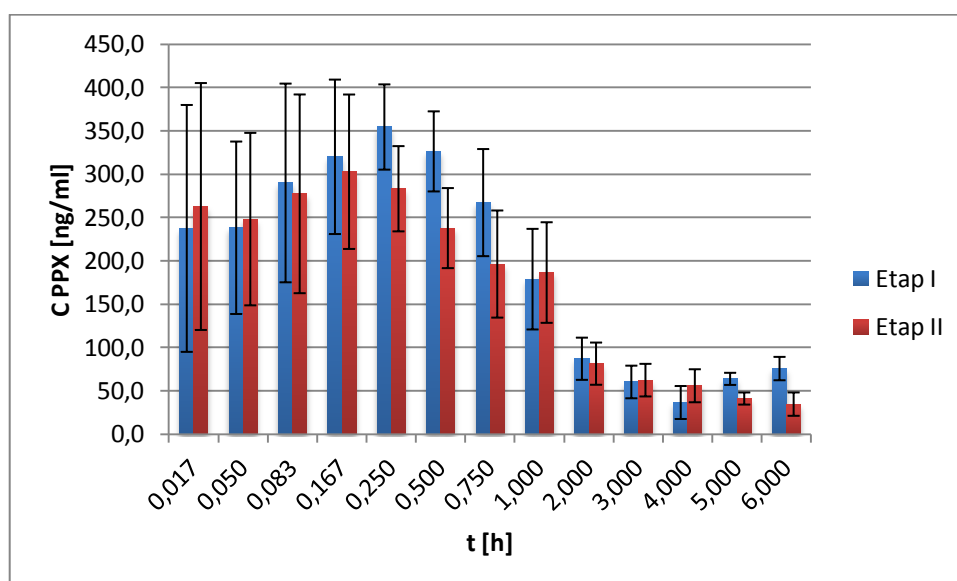


Tabela 54

## Parametry farmakokinetyczne lidokainy w osoczu krwi królików w etapie I

Parametr	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	K9	K10	ŚREDNIA	SD	%CV
$\beta$ [h <sup>-1</sup> ]	0,550	0,735	0,653	1,870	1,776	2,107	1,078	0,493	0,169	0,357	0,979	0,695	70,967
AUC(o-t) [ng/ml x h]	1186,675	1164,864	808,660	967,599	398,086	569,358	835,900	722,508	610,482	808,523	807,266	251,284	31,128
AUMC(o-t) [ng/ml x h <sup>2</sup> ]	1272,888	1067,607	792,268	1017,068	221,093	269,385	676,372	926,647	799,823	969,738	801,289	336,521	41,998
MRT(o-t) [h]	1,073	0,917	0,980	1,051	0,555	0,473	0,809	1,283	1,310	1,199	0,965	0,285	29,533
$t_{0,5 \beta}$ [h]	3,401	4,401	5,401	6,401	7,401	8,401	9,401	10,401	11,401	12,401	7,901	3,028	38,320
Vd area [ml]	197,577	154,216	210,173	77,909	190,915	122,537	143,145	295,080	1136,051	415,855	294,346	310,777	105,582
Cl [ml/h]	108,707	113,318	137,264	145,721	339,123	258,186	154,325	145,327	191,652	148,419	174,204	71,974	41,316
C <sub>max</sub> [ng/ml]	1473,286	2018,795	826,603	883,729	513,061	863,752	905,613	665,097	401,168	692,366	924,347	480,541	51,987
t <sub>max</sub> [h]	0,250	0,167	0,167	0,167	0,083	0,083	0,083	0,167	0,083	0,167	0,142	0,057	39,860

Tabela 55

## Parametry farmakokinetyczne lidokainy w osoczu krwi królików w etapie II

Parametr	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	ŚREDNIA	SD	%CV
$\beta$ [h <sup>-1</sup> ]	0,091	0,464	0,599	0,407	1,077	0,444	2,309	1,380	0,846	0,718	84,858
AUC(o-t) [ng/ml x h]	557,217	661,167	1098,721	955,199	395,885	922,018	966,375	728,555	785,642	239,306	30,460
AUMC(o-t) [ng/ml x h <sup>2</sup> ]	555,350	778,303	1150,154	1020,181	397,948	1058,899	1012,242	708,284	835,170	268,235	32,117
MRT(o-t) [h]	0,997	1,177	1,047	1,068	1,005	1,148	1,047	0,972	1,058	0,072	6,830
$t_{0,5 \beta}$ [h]	7,659	1,495	1,158	1,702	0,643	1,560	0,300	0,502	1,877	2,394	127,530
Vd area [ml]	2558,096	440,337	168,743	362,508	302,499	358,841	57,820	116,413	545,657	824,003	151,011
Cl [ml/h]	231,508	204,184	101,027	147,613	325,8522	159,433	133,489	160,592	182,962	70,396	38,476
C <sub>max</sub> [ng/ml]	993,740	560,307	1001,279	1043,606	392,125	1038,123	1074,153	642,339	843,209	268,059	31,790
t <sub>max</sub> [h]	0,167	0,167	0,250	0,250	0,167	0,083	0,083	0,167	0,167	0,0631	37,854



Tabela 56

## Parametry farmakokinetyczne bupiwakainy w osoczu krwi królików w etapie I

Parametr	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	K9	K10	ŚREDNIA	SD	%CV
$\beta$ [h <sup>-1</sup> ]	0,545	1,685	0,559	0,437	0,341	0,903	0,316	0,593	0,373	0,289	0,604	0,421	0,697
AUC(o-t) [ng/ml x h]	591,896	498,391	319,406	499,886	680,345	1051,821	723,538	345,048	668,729	459,477	583,854	213,923	0,366
AUMC(o-t) [ng/ml x h <sup>2</sup> ]	1621,475	1156,775	619,175	1089,526	1619,911	2709,048	1828,584	786,049	1583,792	949,955	1396,429	612,197	0,438
MRT(o-t) [h]	2,739	2,321	1,939	2,180	2,381	2,576	2,527	2,278	2,368	2,067	2,338	0,240	0,103
$t_{0,5 \beta}$ [h]	1,271	0,411	1,240	1,585	2,033	0,768	2,192	1,168	1,859	2,401	1,493	0,638	0,427
Vd area [ml]	117,734	48,830	223,989	192,132	172,466	41,062	166,096	205,161	148,374	301,543	161,739	78,733	0,487
Cl [ml/h]	64,200	82,265	125,232	84,019	58,794	37,079	52,520	121,722	55,329	87,056	76,822	29,178	0,380
C <sub>max</sub> [ng/ml]	150,134	157,594	198,646	178,289	261,177	302,140	228,952	155,795	210,774	167,194	201,070	50,450	0,251
t <sub>max</sub> [h]	3,000	2,000	1,000	0,250	0,750	0,500	2,000	0,500	0,750	0,038	1,079	0,946	0,877

Tabela 57

## Parametry farmakokinetyczne bupiwakainy w osoczu krwi królików w etapie II

Parametr	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	K10	ŚREDNIA	SD	%CV
$\beta$ [h <sup>-1</sup> ]	0,248	0,233	0,267	0,244	0,596	0,406	0,114	0,333	0,741	0,353	0,198	56,086
AUC(o-t) [ng/ml x h]	4294,773	341,546	493,374	564,290	200,149	1616,262	476,276	364,794	290,580	960,227	1319,183	137,382
AUMC(o-t) [ng/ml x h <sup>2</sup> ]	10509,045	1042,564	1167,178	1285,109	141,548	7218,332	1191,784	996,346	1238,399	2754,478	3576,441	129,841
MRT(o-t) [h]	2,447	3,052	2,366	2,277	0,707	4,466	2,502	2,731	2,303	2,539	0,970	38,220
t <sub>0,5</sub> $\beta$ [h]	2,796	2,979	2,599	2,841	1,164	1,708	6,080	2,079	0,936	2,576	1,510	58,627
Vd area [ml]	26,299	603,943	326,790	225,149	327,102	71,660	755,128	369,998	204,430	323,389	235,250	72,745
Cl [ml/h]	6,520	140,537	87,155	54,936	194,855	29,079	86,085	123,357	151,421	97,105	61,148	62,971
C <sub>max</sub> [ng/ml]	1112,112	84,474	241,789	302,735	320,156	859,828	192,281	88,511	132,609	370,499	364,487	98,377
t <sub>max</sub>	0,75	3,000	0,050	0,083	0,083	5,000	0,083	3,000	1,000	1,450	1,791	123,538

Tabela 58

## Parametry farmakokinetyczne PPX w osoczu krwi królików w etapie I

Parametr	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	K9	K10	ŚREDNIA	SD	%CV
$\beta$ [h <sup>-1</sup> ]	0,733	0,205	2,766	0,540	0,380	2,259	0,592	0,596	0,590	0,804	0,946	0,851	89,886
AUC(o-t) [ng/ml x h]	331,916	1275,837	249,486	301,344	821,559	435,551	753,842	200,149	667,488	213,067	525,024	349,351	66,540
AUMC(o-t) [ng/ml x h <sup>2</sup> ]	326,319	3010,515	120,102	267,281	1200,493	282,231	855,452	141,548	718,127	125,754	704,782	887,729	125,958
MRT(o-t) [h]	0,983	2,360	0,481	0,887	1,461	0,648	1,135	0,707	1,076	0,590	1,033	0,551	53,382
$t_{0,5} \beta$ [h]	0,946	3,386	0,251	1,283	1,826	0,307	1,170	1,164	1,175	0,862	1,237	0,885	71,515
$C_{max}$ [ng/ml]	286,967	462,106	514,881	319,475	727,491	555,784	703,189	320,156	508,005	363,449	476,150	156,754	32,921
$t_{max}$ [h]	0,083	0,250	0,500	0,017	0,500	0,250	0,250	0,083	0,167	0,083	0,218	0,170	77,829

Tabela 59

## Parametry farmakokinetyczne PPX w osoczu krwi królików w etapie II

Parametr	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	K9	K10	ŚREDNIA	SD	% CV
$\beta$ [h <sup>-1</sup> ]	0,090	0,320	0,112	0,256	0,231	0,218	0,452	0,172	0,288	0,434	0,257	0,121	47,233
AUC(o-t) [ng/ml x h]	476,984	485,007	537,876	587,854	524,540	652,691	787,183	505,793	615,285	732,468	590,568	106,269	17,994
AUMC(o-t) [ng/ml x h <sup>2</sup> ]	1077,893	823,671	948,321	1090,849	996,291	1175,570	1459,701	924,878	1074,083	1120,354	1069,161	172,572	16,141
MRT(o-t) [h]	2,260	1,698	1,763	1,856	1,899	1,801	1,854	1,829	1,746	1,530	1,824	0,186	10,182
$t_{0,5 \beta}$ [h]	7,745	2,169	6,172	2,703	2,999	3,187	1,532	4,032	2,411	1,596	3,455	2,024	58,583
$C_{max}$ [ng/ml]	240,451	258,709	416,453	391,747	351,005	274,874	373,184	226,512	536,713	421,436	349,108	98,817	28,305
$t_{max}$ [h]	0,083	0,250	0,017	0,017	0,017	0,500	0,050	0,250	0,083	0,167	0,143	0,154	107,632

Tabela 60

Ocena statystyczna (test Wilcoxona) parametrów farmakokinetycznych lidokainy  
 etap I vs. etap II

Zmienne	P <sub>value</sub>
$\beta_{(I)}$ vs. $\beta_{(II)}$	0,327
AUC(o-t) <sub>(I)</sub> vs. AUC(o-t) <sub>(II)</sub>	0,889
AUMC(o-t) <sub>(I)</sub> vs. AUMC(o-t) <sub>(II)</sub>	0,575
MRT(o-t) <sub>(I)</sub> vs. MRT(o-t) <sub>(II)</sub>	0,208
$t_{0,5 \beta (I)}$ vs. $t_{0,5 \beta (II)}$	<b>0,036 (IS)</b>
Vd area <sub>(I)</sub> vs. Vd area <sub>(II)</sub>	0,123
Cl <sub>(I)</sub> vs. Cl <sub>(II)</sub>	1,000
C <sub>max (I)</sub> vs. C <sub>max (II)</sub>	1,000
t <sub>max (I)</sub> vs. t <sub>max (II)</sub>	0,273

Tabela 61

Ocena statystyczna (test Wilcoxona) stężeń lidokainy  
etap I vs. etap II

<b>Czas [h]</b>	<b>P value</b>
<b>0,017</b>	0,310
<b>0,083</b>	0,889
<b>0,167</b>	0,484
<b>0,250</b>	0,866
<b>0,500</b>	0,575
<b>1,000</b>	0,612
<b>1,500</b>	1,000
<b>2,000</b>	0,499
<b>2,500</b>	0,893
<b>3,000</b>	0,917
<b>4,000</b>	0,465

Tabela 62

Ocena statystyczna (test Wilcoxona) parametrów farmakokinetycznych bupiwakainy  
 etap I vs. etap II

Zmienne	P <sub>value</sub>
$\beta_{(I)}$ vs. $\beta_{(II)}$	0,139
AUC(o-t) <sub>(I)</sub> vs. AUC(o-t) <sub>(II)</sub>	0,767
AUMC(o-t) <sub>(I)</sub> vs. AUMC(o-t) <sub>(II)</sub>	0,314
MRT(o-t) <sub>(I)</sub> vs. MRT(o-t) <sub>(II)</sub>	0,260
$t_{0,5 \beta (I)}$ vs. $t_{0,5 \beta (II)}$	0,066
Vd area <sub>(I)</sub> vs. Vd area <sub>(II)</sub>	0,066
Cl <sub>(I)</sub> vs. Cl <sub>(II)</sub>	0,441
C <sub>max (I)</sub> vs. C <sub>max (II)</sub>	0,313
t <sub>max (I)</sub> vs. t <sub>max (II)</sub>	0,767

Tabela 63

Ocena statystyczna (test Wilcoxona) stężeń bupiwakainy  
etap I vs. etap II

<b>Czas [h]</b>	<b>P value</b>
<b>0,017</b>	0,068
<b>0,050</b>	0,063
<b>0,083</b>	0,310
<b>0,167</b>	0,093
<b>0,250</b>	0,374
<b>0,500</b>	0,674
<b>0,750</b>	1,000
<b>1,000</b>	0,173
<b>2,000</b>	0,575
<b>3,000</b>	0,779
<b>4,000</b>	0,866
<b>5,000</b>	0,401
<b>6,000</b>	0,144



Tabela 64

Ocena statystyczna (test Wilcoxona) parametrów farmakokinetycznych PPX  
etap I vs. etap II

Zmienne	P <sub>value</sub>
$\beta_{(I)}$ vs. $\beta_{(II)}$	<b>0,007 (IS)</b>
AUC(o-t) <sub>(I)</sub> vs. AUC(o-t) <sub>(II)</sub>	0,386
AUMC(o-t) <sub>(I)</sub> vs. AUMC(o-t) <sub>(II)</sub>	0,093
MRT(o-t) <sub>(I)</sub> vs. MRT(o-t) <sub>(II)</sub>	<b>0,009 (IS)</b>
$t_{0,5 \beta (I)}$ vs. $t_{0,5 \beta (II)}$	<b>0,017 (IS)</b>
$C_{max (I)}$ vs. $C_{max (II)}$	<b>0,047 (IS)</b>
$t_{max (I)}$ vs. $t_{max (II)}$	0,447

Tabela 65

Ocena statystyczna (test Wilcoxona) stężień PPX  
etap I vs. etap II

Czas [h]	P value
0,017	0,345
0,050	0,310
0,083	0,515
0,167	0,799
0,250	0,594
0,500	0,066
0,750	0,753
1,000	0,959
2,000	0,575
3,000	0,345
4,000	0,500
5,000	1,000
6,000	0,655

Rytm biologiczne regulują wiele funkcji organizmów żywych. Większość rytmicznych zmian w organizmie zsynchronizowana jest z naturalnym cyklem światło – ciemność, wynoszącym w przybliżeniu 24 godziny i nazywanym rytmem cirkadialnym.<sup>5,147</sup> Również w farmakoterapii zauważono możliwość wywierania wpływu pory podania leku (godziny, miesiąca czy też pory roku) na jego efekty w organizmie.<sup>16</sup> Wiele leków wykazuje zmienną efektywność, długość działania, a także toksyczność w zależności od godziny ich zastosowania.<sup>147</sup> Czas podania leku może determinować różnice odpowiedzi organizmu w aspekcie jakościowym i ilościowym – chronofarmakodynamika, a także różnice w osiągniętych stężeniach leku – chronafarmakokinetyka.<sup>16</sup>

Anestetyki wydają się być interesującą, z poznawczego punktu widzenia, grupą leków do badań chronobiologicznych ze względu na dobową zmienność wrażliwości na ból, a także na dzielenie tego samego mechanizmu przez sen anestetyczny co sen fizjologiczny.<sup>148</sup> Podejrzewa się istnienie możliwości wydłużenia czasu działania anestetyków w fazie spoczynku, jednak nie potwierdzono tego jeszcze odpowiednimi badaniami. Z drugiej strony znieczulenie ogólne może działać na organizm podobnie jak zmiana stref czasowych czy wykonywanie pracy zmianowej. Często po zastosowanym znieczuleniu obserwowane są zaburzenia snu, bóle głowy, senność czy ogólne złe samopoczucie, co może być spowodowane działaniem leków na tak zwany wewnętrzny zegar biologiczny.<sup>5</sup>

W niniejszej pracy przeprowadzono analizę chronofarmakokinetiki ogólnego anestetyku – propofolu, a także zbadano jego interakcje z wybranymi lekami miejscowo znieczulającymi na modelu zwierzęcym (króliki).

Propofol został wprowadzony do leczenia w 1986 roku i od tego czasu zyskuje coraz większą popularność ze względu na wyjątkowo korzystne właściwości farmakologiczne. Jest to krótkodziałający lek dożylnie znieczulający, charakteryzujący się szybkim i łagodnym początkiem działania, niewielką częstością występowania działań niepożądanych oraz łatwością wybudzania z hipnozy.<sup>1,3,4</sup> Jego niewątpliwym atutem są również dodatkowe działania nieanestetyczne, wśród których szczególnie istotne z klinicznego punktu widzenia jest działanie przeciwwymiotne.<sup>2</sup>

Chronobiologiczne aspekty znieczulenia nie zostały do tej pory wyjaśnione. Najwięcej informacji dotyczących chronobiologii propofolu dostarczyły badania Chaletta z 2007 roku, które wskazały wzajemne relacje między anestezją propofolową a dobowym rytmem biologicznym u szczurów. Długość anestezji wywołanej

propofolem wykazywała znaczące różnice w zależności od pory podania leku. Najdłuższy efekt uzyskano podczas zastosowania leku w fazie odpoczynku zwierząt (14:00, 18:00), najkrótsze natomiast w ich fazie aktywności (22:00, 02:00). W badaniu tym analizowano także chronobiotyczny efekt propofolu, wykazując godzinne przesunięcie rytmu sen – czuwanie u badanych zwierząt po zastosowaniu 30 minutowej hipnozy propofolowej w porze  $\pm 2$  godziny około momentu przejścia z fazy spoczynku do czuwania. W innych godzinach efekt chronobiotyczny propofolu nie wystąpił.<sup>5</sup> Wyniki tych badań mogą częściowo tłumaczyć symptomy pojawiające się po znieczuleniu ogólnym jak zaburzenia snu, nastroju czy zmęczenie przypominające efekty podróży międzykontynentalnych i zmian stref czasowych.<sup>149</sup> U osób, które przechodziły operacje w znieczuleniu ogólnym, zaobserwowano także zaburzenia rytmu wydzielania melatoniny. Ponieważ melatonina jest jednym z głównych hormonów regulujących rytm sen – czuwanie, zaburzenia jej wydzielania są uważane za odzwierciedlenie zaburzeń pracy zegara biologicznego w jądrach nadskrzyżowaniowych.<sup>150,151</sup> Za zmiany te mogą być odpowiedzialne zarówno leki stosowane podczas anestezji jak i sam zabieg chirurgiczny.<sup>151</sup>

Również Sato i wsp.<sup>152</sup> zaobserwowali zmiany w długości efektu znieczulającego leków działających przez receptory GABA<sub>A</sub> (propofol, midazolam, pentobarbital), a także przez receptory NMDA (ketamina) w zależności od pory ich podania. Cytowani wyżej autorzy w badaniach na myszach wykazali dłuższe działanie wymienionych leków o godzinie 22:00 (wczesna faza aktywności) niż o 10:00 (wczesna faza spoczynku).<sup>152</sup> Mechanizm takiego działania nie został w pełni wyjaśniony. Niektóre badania sugerują, iż może wynikać to ze zmian w liczbie i aktywności receptorów GABA<sub>A</sub> w przypadku m.in. propofolu lub receptorów NMDA dla ketaminy.<sup>16, 42, 152, 153</sup>

W chronofarmakologicznych badaniach ketaminy przeprowadzonych przez Sato i wsp.<sup>147</sup> porównywano hipnotyczny efekt działania ketaminy u myszy typu dzikiego z efektem działania u myszy zmutowanych, pozbawionych podjednostki  $\epsilon 1$  receptora NMDA. Zaobserwowano zmiany dobowe w działaniu ketaminy u myszy typu dzikiego, natomiast zmiany takie nie wystąpiły w przypadku badania zmutowanych myszy, co wskazuje na możliwą przyczynę dobowej zmienności wrażliwości na anestezję wynikającą ze zmian wrażliwości centralnego układu nerwowego.<sup>147</sup>

Wstępne badania Kobayashiego<sup>38</sup> oraz Yoshidy<sup>39</sup> nad wpływem anestetyków na ekspresję genów cirkadialnych mogą wskazywać perspektywiczne kierunki badań. Badacze wykazali, że zarówno dożylny anestetyk ogólny – propofol jak i wziewny

sewofluran hamują ekspresję genów cirkadialnych w mózgu. Badania te nie były jednak ograniczone tylko do struktur zegara biologicznego, dlatego nie mogą w pełni tłumaczyć chronobiologicznego aspektu działania wybranych anestetyków. Poza tym geny cirkadialne wykazują szereg innych funkcji poza zegarowymi, np. biorą udział w procesie zapamiętywania, produkcji hormonów czy regulacji snu.<sup>38,39</sup>

Ponieważ zmiany w efekcie działania leków są często spowodowane zmianami w ich farmakokinetyce, możliwym jest udział rytmów farmakokinetycznych w różnej odpowiedzi na leki. Chronofarmakokinetyczne dane mogą częściowo wyjaśniać zjawiska chronofarmakodynamiczne i wskazywać, że czas podania leku jest czynnikiem mogącym wpłynąć na kinetykę leku.<sup>154</sup> Szczególnie prawdopodobne wydaje się to w świetle badań Furukawy<sup>155</sup>, które wykazują zmienność dobową aktywności enzymów wątrobowych i tym samym metabolizmu leków przez te enzymy. Autor ten wykazał wzrost aktywności enzymów w fazie aktywności badanych zwierząt tj. szczurów.<sup>155</sup>

Istnieje wiele badań dotyczących dobowej zmienności parametrów farmakokinetycznych leków miejscowo znieczulających. Zaobserwowano między innymi zależność od pory dnia zmiany wartości  $C_{max}$ , które dla lidokainy najwyższe wartości przyjmuje o godzinie 16:00 oraz zwiększenie wartości AUC podczas podania leku o godzinie 15:30 w porównaniu z innymi godzinami. W przypadku bupiwakainy wykazano dobowe zmiany klirensu z maksymalnymi wartościami tego parametru przypadającymi na godzinę 6:30. W przypadku anestetyków lokalnych określono także godzinę, w której działają one najdłużej (godz. 15:00), a także wykazano dobową zmienność toksyczności tych leków.<sup>16</sup> Chronofarmakokinetyka lokalnych anestetyków może wynikać z dobowej zmienności czynników fizjologicznych wpływających na parametry farmakokinetyczne leków, m.in. różnej przepuszczalności błon biologicznych. Bruguerolle wykazał zmienność dobową penetracji lidokainy do erytrocytów, które są często wykorzystywane w badaniach modelowych.<sup>156</sup> Ten sam badacz wykazał dobową zmienność wiązania z białkami i dystrybucji lidokainy, bupiwakainy, etidokainy i mepiwakainy.<sup>157</sup>

W przypadku lokalnych anestetyków duży wpływ na ich metabolizm mogą mieć także zmiany w wątrobowym przepływie krwi ze względu na wysoki współczynnik ekstrakcji tych leków.

W dostępnej literaturze nie opublikowano dotąd chronofarmakokinetycznych badań dotyczących propofolu. Badania Challeta<sup>5</sup> wykazują dobową zmienność czasu działania propofolu oraz jego wpływ na zegar biologiczny, jednak w pracy tej nie

określano stężenia propofolu odpowiedzialnych za te efekty. W niniejszej pracy doktorskiej skupiono się na próbie wyjaśnienia chronofarmakodynamicznych efektów propofolu w aspekcie farmakokinetyki tego leku w zależności od godzin podania.

Badanie wpływu godziny podania na farmakokinetykę propofolu u królików przeprowadzono z udziałem 9 królików rasy *Nowozelandzkiej białej*, które w sposób losowy przydzielono do jednej z trzech grup. Przed pierwszym podaniem leku zwierzęta były przyzwyczajane do warunków, w których przez 12 godzin poddawane były wpływowi sztucznego oświetlenia, a przez kolejne 12 godzin całkowitej ciemności. Badanie przeprowadzone zostało w trzech etapach, w układzie krzyżowym z zachowaniem dwutygodniowych odstępów czasowych pomiędzy kolejnymi etapami (wash-out). W każdym z etapów zwierzętom podawano propofol w dawce 5 mg/kg masy ciała w postaci wlewu do żyły brzożnej ucha roztworu preparatu *Plofed*<sup>®</sup> 1% z 5% glukozą w stosunku 1:4 za pomocą pompy infuzyjnej *Perfusor Space* firmy *B. Braun* z szybkością wlewu 99 ml/h. Lek podawano każdemu ze zwierząt doświadczalnych dokładnie o godzinie 10:00, 16:00 oraz 22:00. Stężenie propofolu w osoczu krwi królików oznaczano w następujących punktach czasowych: 5 i 10 minucie wlewu, zatrzymaniu wlewu oraz 3, 5, 10, 15 i 30 minut po zakończeniu wlewu za pomocą wysokosprawnego chromatografu cieczowego 1200 Series *Agilent Technologies* LC. W tym celu wcześniej zwalidowano metodę oznaczania propofolu opisaną przez Plummera.<sup>139</sup> Oznaczana substancja była ekstrahowana z osocza za pomocą cykloheksanu, odparowywana w strumieniu azotu, rozpuszczana w fazie ruchomej i nastrzykiwana na kolumnę chromatografu.

Na podstawie uzyskanych wyników stężeń (tab. 38 – 40) obliczono parametry farmakokinetyczne dla trzech godzin podania leku przy pomocy programu *Excel*<sup>®</sup> v.2007:  $k_e$ ,  $t_{0,5}$ , AUC, AUMC, MRT, Cl oraz Vd (tab. 41 – 44).

Analizując otrzymane parametry farmakokinetyczne przy wykorzystaniu testów statystycznych (tab. 45 – 47) wykazano istotne statystycznie zmiany dla wartości stałej szybkości eliminacji propofolu, która wynosiła o godzinie 10:00 średnio  $0,05 \pm 0,02$  ( $\text{min}^{-1}$ ), o godzinie 16:00 średnio  $0,03 \pm 0,01$  ( $\text{min}^{-1}$ ) oraz średnio  $0,03 \pm 0,02$  ( $\text{min}^{-1}$ ) o godzinie 22:00. Wyniki testu najmniejszej istotnej różnicy dla stałej eliminacji wykazały wysoką istotność różnicy tego parametru między godzinami 10:00 a 22:00 oraz istotną różnicę dla godzin 10:00 i 16:00. Nie wykazano różnic istotnych statystycznie dla pozostałych parametrów farmakokinetycznych, jednak warto zauważyć różnice w wartościach AUC, które były najwyższe o godzinie 22:00

natomiast o godzinie 10:00 zaobserwowano zmniejszenie wartości AUC o 15%, a o godzinie 16:00 mniejsze o 18%. Brak istotności statystycznej dla wartości AUC może być spowodowane niewielką liczebnością grupy badanej ( $n=9$ ), a badania z udziałem większej liczby zwierząt mogłyby potwierdzić lub wykluczyć tę tendencję.

Wyniki te częściowo potwierdzają ogólny trend do wzrostu eliminacji leków w godzinach aktywności zwierząt oraz możliwość wydłużenia i nasilenia działania anestetyków w porze spoczynku, jednak w celu wyjaśnienia chronobiologicznych właściwości propofolu potrzebne są dalsze eksperymenty. Dotychczasowe wyniki badań chronofarmakologicznych wybranych leków ogólnie znieczulających sugerują raczej większą podatność lub wrażliwość centralnego układu nerwowego na anestezję w pewnych porach, niż na efekt różnic w farmakokinetyce dobowej tych leków. Sato i wsp.<sup>147</sup> w badaniach nad chronobiologią ketaminy nie zaobserwowali żadnych istotnych różnic w kinetyce tego leku w zależności od godziny zastosowania, natomiast potwierdził się wpływ godziny podania na wrażliwość receptora NMDA, porównując dobowe nasilenie działania leku u myszy typu dzikiego z efektem osiąganym w ciągu doby u zwierząt zmutowanych, pozbawionych podjednostki  $\epsilon 1$  tego receptora.<sup>147</sup> W badaniach nad wpływem czasu na efekt dożylnych hipnotyków u myszy działających przez receptory GABA<sub>A</sub> (pentobarbital, propofol, midazolam), Sato i wsp.<sup>152</sup> ponownie sugerują, że zmiany długości i efektywności działania anestetyków wynikają raczej ze zmiennej wrażliwości układu nerwowego niż z dobowych zmian w metabolizmie, gdyż nie zaobserwowano zmian między godziną 10:00 a 22:00 w ilości i aktywności izoenzymów CYP.<sup>152</sup> Hipotezę tą zdają się potwierdzać badania Jaliffa, wykazujące wzrost aktywności postsynaptycznych receptorów GABA<sub>A</sub> podczas godzin nocnych.<sup>153</sup>

Kolejnym aspektem niniejszej rozprawy doktorskiej jest badanie farmakokinetyki propofolu w aspekcie jego interakcji z wybranymi lekami miejscowo znieczulającymi.

Oddziaływania leków między sobą są obecnie jednym z głównych problemów i zagadnień farmakoterapii. Polifarmakoterapia wielu chorób jest obecnie bardzo powszechna i właściwie rzadko zdarza się możliwość leczenia pacjenta wyłącznie jednym lekiem. Problem ten dotyczy także anestezjologii, ponieważ do tej pory nie jest znany lek, który byłby w stanie sam zapewnić wszystkie komponenty prawidłowej anestezji bez narażenia pacjenta na zaburzenia funkcji życiowych. W praktyce klinicznej, również propofol musi być łączony z innymi lekami, gdyż zapewnia on jedynie hipnozę, nie dając efektu analgetycznego, stąd częste łączenie go z lekami

miejscowo znieczulającymi, a także opioidami i lekami zwiotczającymi. Połączenie kilku farmaceutyków pozwala na uzyskanie optymalnej anestezji, jednak stwarza ryzyko wystąpienia interakcji międzylekowych.<sup>10,12,13,88,158</sup>

Skojarzenie analgezji regionalnej ze znieczuleniem ogólnym zapewnia uzyskanie odpowiedniego działania przeciwbólowego w czasie oraz po zabiegu, umożliwia bezpieczne i szybkie wybudzenie pacjenta oraz minimalizuje niekorzystne reakcje pooperacyjne.

Połączenie propofolu z lekami miejscowo znieczulającymi takimi jak lidokaina i bupiwakaina jest szczególnie chętnie wykorzystywane podczas inwazyjnych badań diagnostycznych jak m.in. endoskopia przewodu pokarmowego, angiografia, bronchoskopia, biopsje oraz wziernikowanie pęcherza moczowego i moczowodów.<sup>46,98</sup>

U dzieci, połączenie takie jest wykorzystywane w celu utrzymania ich przez dłuższy czas w bezruchu, zmniejszenia stresu i dyskomfortu podczas przeprowadzania znieczulenia regionalnego.<sup>159</sup>

Także w celu zmniejszenia najczęściej występującego działania niepożądanego propofolu jakim jest ból w miejscu podania, popularną techniką jest łączenie tego leku z lidokainą. Powszechnie stosowane są dwie metody: bezpośrednie podanie lidokainy do żyły przed podaniem do niej propofolu lub zmieszanie emulsji propofolowej z lidokainą i podawanie gotowego roztworu.<sup>160</sup>

Obecnie wzrasta zainteresowanie i kliniczne wykorzystanie interakcji pomiędzy anestezją regionalną i lekami używanymi do ogólnego znieczulenia. Wykazano bowiem, iż blokada rdzeniowa z zastosowaniem bupiwakainy zmniejsza potrzebę stosowania hipnotyków: propoflu, midazolamu i tiopentalu.<sup>161,162</sup>

Możliwość określenia interakcji lekowych z udziałem anestetyków lokalnych i ogólnych, które mogą modyfikować efekt znieczulenia u pacjenta, byłaby bardzo cenna w codziennej praktyce klinicznej. Dotychczasowe doniesienia literaturowe nie dają jednoznacznej odpowiedzi na temat możliwego wpływu propofolu na leki znieczulające miejscowo, dlatego badanie interakcji między propofolem a bupiwakainą i lidokainą wydaje się być istotnym i wartym wyjaśnienia zagadnieniem. Z jednej strony połączenie kilku leków pozwolić może na zmniejszenie ich dawek, jednak, co jest szczególnie istotne w przypadku leków miejscowo znieczulających, może też prowadzić do przekroczenia bezpiecznych stężeń leków i pojawienia się objawów toksycznych, szczególnie ze strony układów nerwowego i krążenia.<sup>98,104</sup>



Zarówno w metabolizmie propofolu jak i lidokainy biorą udział enzymy CYP 1A2 oraz CYP 3A4, a za metabolizm bupiwakainy w głównej mierze odpowiedzialna jest izoforma CYP 3A4, co stwarza możliwości wystąpienia interakcji na poziomie metabolizmu tych leków.<sup>10,12,86,112,116,163</sup>

W dotychczasowych badaniach wykazano hamujące właściwości propofolu na metabolizm innych leków. Hamaoka i wsp.<sup>86</sup> w badaniach *in vitro* z użyciem ludzkich mikrosomów wykazali zmniejszenie metabolizmu midazolamu pod wpływem propofolu.<sup>86</sup> Badania przeprowadzone w warunkach *in vivo* potwierdziły tę tendencję. Lichtenbelt i wsp.<sup>164</sup> badali wpływ propofolu na metabolizm midazolamu na grupie 8 zdrowych ochotników. W pierwszym etapie badanym podano sam midazolam, w drugim etapie midazolam i propofol. Po zastosowaniu propofolu stwierdzono 27% wzrost wartości stężeń midazolamu, zmniejszenie jego objętości dystrybucji z 5,37 do 2,98 l oraz klirensu z 0,39 do 0,31 l/min. Przypuszcza się, że zmiany te mogą wynikać z hamującego wpływu propofolu na izoformę CYP 3A4, odpowiedzialną w głównej mierze za metabolizm midazolamu.<sup>164</sup>

Hamujący wpływ propofolu na metabolizm wątrobowy potwierdziły także badania Inomaty i wsp.<sup>10</sup>, którzy wykazali hamowanie metabolizmu lidokainy w badaniu *in vitro* z zastosowaniem ludzkich i szczurzych mikrosomów. W przeprowadzonym badaniu stosowano różne dawki propofolu (0; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10; 15; 20 i 40 µg/ml) w celu określenia ich wpływu na przemianę lidokainy (4,7 µg/ml) do jej metabolitu MEGX. Pomiar ilości tworzącego się MEGX wykazał nieliniową zależność obniżania aktywności metabolicznej mikrosomów wraz ze wzrostem dawek propofolu. Metabolizm lidokainy został zahamowany w 50% już przy dawce propofolu wynoszącej 5 µg/ml.<sup>10</sup> Wyniki tych badań w świetle wcześniejszych badań Leunga i wsp.<sup>165</sup> mogą wskazywać, że propofol jest w znacznej mierze metabolizowany przez izoformę CYP 1A2. Podobnie jak lidokaina, za której metabolizm w dwóch trzecich, według doniesień Orlanda i wsp., jest odpowiedzialny CYP 1A2.<sup>112</sup> Leung wykazał hamujący wpływ propofolu na metabolizm midazolamu, który jest metabolizowany przez izoformę CYP 3A4, jednak dopiero w dużych dawkach znacznie przekraczających dawki kliniczne 1 mmol/l.<sup>165</sup> Wyniki uzyskane przez Inomate – 50% zahamowanie metabolizmu lidokainy przy stężeniach 5 µg/ml mogą wskazywać na większy udział w biotransformacji leku CYP 1A2.<sup>10</sup>

Te same izoformy cytochromu P450, co w przypadku lidokainy, biorą udział w metabolizmie innego lokalnego anestetyku tj. ropiwakainy. Również w tym

przypadku wykazano zależny od dawki hamujący wpływ propofolu na metabolizm tego lokalnego anestetyku *in vitro*.<sup>89</sup>

Dalsze badania Nakayamy i wsp.<sup>12</sup> nad wpływem propofolu na metabolizm lidokainy nie potwierdziły wcześniejszych wyników Inomaty i wsp.<sup>10</sup> Badanie *in vivo* z udziałem 32 pacjentów przydzielanych losowo do jednej z dwóch grup – otrzymujących propofol lub sewofluran (n=16), znieczulanych zewnątrzoponowo lidokainą w dawce inicjującej 5 mg/kg a następnie podawanej w postaci wlewu 2,5 mg/kg/h, nie wykazało różnic w stężeniach lidokainy w osoczu pomiędzy grupami. Stężenie propofolu u badanych osób wynosiło 4 µg/ml co odpowiada stężeniom terapeutycznym tego leku (4-6 µg/ml).<sup>12</sup>

W świetle przedstawionych wyżej badań innych autorów, dodatkowym aspektem niniejszej pracy doktorskiej była ocena wpływu propofolu na parametry farmakokinetyczne i metabolizm wybranych leków miejscowo znieczulających – lidokainy i bupiwakainy. Badania przeprowadzono dwuetapowo z wykorzystaniem zwierzęcego modelu doświadczalnego – królików rasy *Nowozelandzkiej białej* (lidokaina etap I n=10, etap II n=8, bupiwakaina etap I, II n=10). W pierwszym etapie zwierzętom podano sam lek znieczulający miejscowo, w drugim dołączono propofol.

W badaniach interakcji propofolu i lidokainy, w pierwszym etapie podawano zwierzętom doustnie lidokainę w dawce 3 mg/kg masy ciała i pobierano próbki krwi w następujących punktach czasowych od podania leku: 0,5,10,15, 30,60,90,120,150,180 oraz 240 minut. W drugim etapie eksperymentu podanie lidokainy poprzedzono dwukrotnym podaniem propofolu w dawce 5 mg/kg masy ciała w postaci roztworu z 5% glukozą (1:4) za pomocą pompy infuzyjnej *Kwapisz*® z szybkością wlewu 99 ml/h i ponownie pobierano próbki w takich samych punktach czasowych jak w etapie pierwszym. W ustaleniu procedury eksperymentalnej sugerowano się opracowaną wcześniej metodyką doustnego testu lidokainowego, który jest dobrym wskaźnikiem oceny czynności wątroby, zależnym od aktywności izoenzymów CYP 1A2 oraz CYP 3A4.<sup>145,166</sup>

Dotychczasowe doniesienia literaturowe wskazują, że wcześniejsze zastosowanie leków miejscowo znieczulających pozwala znacznie obniżyć dawki stosowanych jednocześnie hipnotyków. Agarwal i wsp.<sup>13</sup> wykazali możliwość zmniejszenia dawek stosowanego propofolu przy wcześniejszym zewnątrzoponowym zastosowaniu bupiwakainy z dawki indukującej  $2,4 \pm 0,6$  mg/kg do  $1,3 \pm 0,3$  mg/kg oraz podtrzymującej z  $4,4 \pm 1,6$  mg/kg do  $2,4 \pm 0,9$  mg/kg.<sup>13</sup>

Z drugiej strony, propofol wydaje się być potencjalnym inhibitorem bupiwakainy, gdyż metabolizm tych leków dzieli szlak cytochromu P450 CYP 3A4.<sup>121</sup> W badaniach Jebbarla i wsp.<sup>167</sup> z udziałem 13 pacjentów poddawanych operacjom kończyn dolnych z zastosowaniem blokady nerwu kulszowego bupiwakainą, porównano parametry farmakokinetyczne lokalnego anestetyku połączonego u 6 pacjentów ze znieczuleniem ogólnym propofolem z parametrami drugiej grupy (n=7), w której stosowano wyłącznie bupiwakainę. Próbki krwi pobierano do 4h od podania leku, a następnie oznaczano metodą HPLC. Porównanie stężeń i parametrów farmakokinetycznych bupiwakainy nie wykazało różnic pomiędzy grupami pacjentów.<sup>167</sup>

W niniejszej pracy badanie interakcji bupiwakainy i propofolu przeprowadzono według schematu naśladującego warunki kliniczne, w których to najpierw świadomemu pacjentowi podawany jest lek miejscowo znieczulający, a dopiero później dołączany jest lek ogólnie znieczulający – np. propofol.<sup>13,158</sup>

W I etapie badania zwierzętom podawano bupiwakainę w dawce 1 mg/kg masy ciała w okolicę nerwu kulszowego za pomocą stymulatora nerwów obwodowych *Stimuplex*<sup>®</sup> i pobierano próbki krwi z żyły brzeżnej ucha w 1, 3, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 120, 180, 240 300 oraz 360 minucie po podaniu leku. W etapie drugim 15 minut po znieczuleniu miejscowym podawano zwierzętom roztwór propofolu z 5% glukozą (w stosunku 1:4) we wlewie 99 ml/h za pomocą pompy infuzyjnej *Kwapisz*<sup>®</sup>. Czasy pobrania próbek krwi były identyczne jak w etapie I badań.

Celem części pracy dotyczącej badań wpływu propofolu na metabolizm wybranych leków miejscowo znieczulających było zatem porównanie stężeń i parametrów farmakokinetycznych lidokainy oraz bupiwakainy i jej metabolitu PPX w dwóch etapach doświadczenia – przed i po włączeniu propofolu. W celu wykonania stosownych oznaczeń, opracowano i zwalidowano metody HPLC przydatne do oznaczania lidokainy oraz bupiwakainy i jej metabolitu PPX.

Do ilościowych oznaczeń lidokainy, bupiwakainy i PPX zastosowano chromatograf cieczowy z autosamplerem *Waters* typ *Alliance 2695* z detektorem UV. Oznaczone substancje były ekstrahowane z osocza krwi za pomocą eteru tert-butyłometylowego, odparowywane do sucha w strumieniu azotu, a suchą pozostałość rozpuszczano w fazie ruchomej i nastrzykiwano na chromatograf. Fazę ruchomą stanowiła mieszanina 0,01 mol/l roztworu dwuwodorofosforanu potasu o pH 2,1 – 2,2 z acetonitrylem (w stosunku 78:22 dla lidokainy oraz 83:17 dla bupiwakainy).

W badaniu wpływu propofolu na metabolizm lidokainy oznaczono stężenia leku do 4 godziny od podania i na tej podstawie obliczono parametry farmakokinetyczne w programie WinNonlin® oraz Excel v.2007:  $\beta$ ,  $AUC_{(0-t)}$ ,  $AUMC_{(0-t)}$ ,  $MRT_{(0-t)}$ ,  $t_{0.5\beta}$ ,  $V_{d\text{area}}$ ,  $Cl$ ,  $C_{\text{max}}$  oraz  $t_{\text{max}}$  (Tab. 48 – 59). Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy pomocy testu Wilcozona w programie *Statistica*® v.10.

Ocena statystyczna parametrów farmakokinetycznych lidokainy w etapie I i II wykazała zmiany istotne statystycznie jedynie dla czasu półtrwania leku w fazie eliminacji, którego średnie wartości w etapie pierwszym wynosiły 7,901 h, a w etapie drugim zmalały do wartości średniej – 1,877 h. Pozostałe parametry nie zmieniły się w sposób znaczący po zastosowaniu propofolu (tab. 54, 55, 60). Również nie zaobserwowano istotnych statystycznie zmian stężeń lidokainy pomiędzy etapami badania (tab. 48,49, 61). Otrzymane wyniki nie wskazują jednoznacznie na wpływ propofolu na farmakokinetykę lidokainy, jednak zaobserwowane, zbliżone właściwości parametrów farmakokinetycznych i wartości stężeń w obu etapach, zdają się potwierdzać wniosek Nakayamy, że propofol nie hamuje metabolizmu lidokainy w warunkach *in vivo*.<sup>12</sup>

Brak hamującego efektu może wynikać ze zbyt małych stężeń propofolu stosowanych w niniejszych eksperymentach, może być też wynikiem nie pokrywania się metabolizmu obu leków na poziomie CYP, albo być wynikiem dużego udziału pozawątrobowego metabolizmu lidokainy, który wg badań Pinga i wsp. wynosi aż 30%.<sup>168</sup>

W badaniu wpływu propofolu na metabolizm bupiwakainy stężenia oznaczono do 6 godziny po podaniu leku, ze względu na dłuższy biologiczny okres półtrwania bupiwakainy niż lidokainy, dla której próbki pobierano do 4 godzin.<sup>3</sup> Obliczono parametry farmakokinetyczne bupiwakainy i jej metabolitu PPX w I i II etapie korzystając z programów *WinNonlin*® oraz *Excel*® v.2007:  $\beta$ ,  $AUC_{(0-t)}$ ,  $AUMC_{(0-t)}$ ,  $MRT_{(0-t)}$ ,  $t_{0.5\beta}$ ,  $C_{\text{max}}$  i  $t_{\text{max}}$  dla obu substancji, oraz  $V_{d\text{area}}$  i  $Cl$  dla bupiwakainy (tab. 50 – 53). Na podstawie przeprowadzonych badań dotyczących wpływu propofolu na metabolizm bupiwakainy nie wykazano różnic istotnych statystycznie między etapami I i II dla parametrów farmakokinetycznych bupiwakainy (tab. 56, 57, 62) oraz dla stężeń leku w osoczu badanych królików (tab. 50, 51, 63). Otrzymane wyniki potwierdzają dotychczasowe doniesienia Jebbarla i wsp.<sup>168</sup> na temat parametrów farmakokinetycznych bupiwakainy zastosowanej do blokady nerwu kulszowego w połączeniu z propofolem, w porównaniu do parametrów otrzymanych po podaniu

samego lokalnego anestetyku. Podanie propofolu nie wpłynęło w sposób istotny statystycznie na stężenia i parametry farmakokinetyczne bupiwakainy.

Na podstawie przeprowadzonych w niniejszej pracy badań wykazano natomiast istotne różnice w wartościach parametrów farmakokinetycznych metabolitu bupiwakainy – PPX przed i po zastosowaniu propofolu (tab. 58, 59, 64). Nie wykazano natomiast różnic w samych stężeniach PPX pomiędzy etapami (tab. 52, 53, 65). Po zastosowaniu propofolu zaobserwowano zmiany stałej szybkości fazy eliminacji –  $\beta$  ( $p=0,007$ ), której średnie wartości w etapie I wynosiły  $0,946 \text{ h}^{-1}$  w etapie II zmalały do  $0,257 \text{ h}^{-1}$ . Również średni czas przebywania leku w ustroju  $\text{MRT}_{(0-t)}$  zmienił się w sposób istotny statystycznie ( $p=0,009$ ) ze średniej wartości w etapie I  $1,033 \text{ h}$  do  $1,824 \text{ h}$  w etapie II. Parametr  $t_{0,5 \beta}$  zmienił się ze średniej wartości  $1,237 \text{ h}$  w etapie I do  $3,455 \text{ h}$  w etapie II. Także uzyskiwane stężenia maksymalne metabolitu bupiwakainy – PPX zmieniły się istotnie przyjmując wartość średnią  $476,150 \text{ ng/ml}$  w etapie I, a  $349,108 \text{ ng/ml}$  w etapie II. Uzyskane wyniki mogą sugerować spowolnienie procesu eliminacji metabolitu bupiwakainy – PPX i tym samym wydłużenie czasu przebywania leku w ustroju, a także czasu półtrwania leku w fazie eliminacji. Dodatek sedacji propofolowej do regionalnej anestezji zmniejszył także w sposób istotny stężenia maksymalne metabolitu bupiwakainy, co może być wynikiem wydłużenia czasu przebywania w ustroju PPX i wolniejszych zmian jego stężeń. Zmiany parametrów farmakokinetycznych PPX mogą wynikać z hamującego wpływu propofolu na metabolizm wątrobowy królików.

Określenie potencjalnych interakcji propofolu oraz możliwość korelacji dawkowania z godziną podania może przyczynić się do zwiększenia skuteczności terapeutycznej i zmniejszenia częstości występowania działań niepożądanych. Jest to szczególnie istotne dla leków często stosowanych na oddziałach intensywnej terapii – takich jak propofol. Dokładne określenie chronofarmakologii i interakcji propofolu z lekami miejscowo znieczulającymi wymaga dalszych badań, które przyczynią się do dalszej optymalizacji terapii tym lekiem.

1. Badanie chronofarmakokinytyki propofolu wykazuje zależność jego szybkości eliminacji od godziny podania leku.
2. Stała szybkości eliminacji propofolu u badanych zwierząt doświadczalnych przyjmuje najwyższe wartości w porze ich aktywności.
3. Parametry farmakokinetyczne propofolu tj. AUC, AUMC, MR, Cl, Vd u królików nie zmieniają się istotnie między godzinami 10:00, 16:00 i 22:00.
4. Podanie propofolu nie powoduje hamowania metabolizmu lidokainy.
5. Parametry farmakokinetyczne bupiwakainy nie zmieniają się po podaniu propofolu.
6. Jednoczesne stosowanie propofolu i bupiwakainy zmienia parametry farmakokinetyczne metabolitu bupiwakainy – 2,6-pipekolilksylidyny (PPX).
7. Propofol wpływa na wolniejszą eliminację PPX i wydłużenie czasu przebywania związku w organizmie.

Propofol jest dożylnym lekiem ogólnie znieczulającym używanym do wprowadzenia jak i podtrzymania znieczulenia oraz do sedacji. Szereg korzystnych właściwości farmakologicznych jak m.in. szybki i łagodny początek działania, łatwość wybudzania i niewielka częstotliwość występowania działań niepożądanych sprawia, że lek jest bardzo chętnie i często stosowany. Dzięki swojej farmakokinetyce propofol jest preparatem preferowanym w tzw. „chirurgii jednego dnia”, gdzie bardzo istotnym jest poznanie czynników modyfikujących odpowiedź farmakologiczną leków.

Celem niniejszej pracy była analiza chronofarmakokinetyczna propofolu oraz zbadanie jego wpływu na farmakokinetykę jednocześnie stosowanych wybranych leków miejscowo znieczulających z użyciem zwierzęcego modelu doświadczalnego. Badania zostały przeprowadzone na trzech grupach królików rasy *Nowozelandzkiej białej*.

W celu oceny wpływu dobowych rytmów biologicznych na farmakokinetykę propofolu przeprowadzono badanie z udziałem 9 królików przydzielonych w sposób losowy do jednej z trzech grup. Doświadczenie przeprowadzono w układzie krzyżowym w trzech etapach z dwutygodniowymi odstępami czasowymi między etapami. Przed badaniem i w trakcie zwierzęta poddawane były działaniu sztucznego oświetlenia przez 12 h, a przez kolejnych 12 h znajdowały się w warunkach całkowitej ciemności. W każdym z etapów w odstępach sześciogodzinnych (10:00, 16:00, 22:00) królikom podawano propofol w postaci wlewu dożylnego w dawce 5 mg/kg m.c. Stężenia propofolu oznaczono w przedziale czasowym od rozpoczęcia wlewu do 30 minut od zakończenia infuzji.

Różnicę istotną statystycznie uzyskano dla wartości stałej eliminacji propofolu o godzinach 10:00, 16:00 i 22:00. Dla pozostałych obliczonych parametrów farmakokinetycznych:  $t_{0,5}$ , AUC, AUMC, MRT, Cl oraz  $V_d$ , nie wykazano różnic istotnych statystycznie w badanych porach dnia.

Podjęto także próbę potwierdzenia lub wykluczenia hamujących właściwości propofolu na metabolizm leków miejscowo znieczulających. Badanie przeprowadzono dwuetapowo na dwóch grupach królików oceniając wpływ propofolu na parametry farmakokinetyczne lidokainy oraz bupiwakainy wraz z jej metabolitem PPX.

Pierwszej grupie zwierząt podano lidokainę w dawce 3 mg/kg m.c. i pobierano próbki w odpowiednich punktach czasowych od 0 do 240 minut od podania leku w dwóch etapach badania. W pierwszym etapie podano zwierzętom jedynie anestetyk

lokalny, natomiast w etapie drugim podanie lidokainy poprzedzone było dwukrotnym podaniem propofolu – 24 godziny oraz 15 minut przed podaniem lokalnego anestetyku.

Obliczono parametry farmakokinetyczne lidokainy w dwóch etapach badania. Różnicę istotną statystycznie po podaniu propofolu zaobserwowano tylko dla czasu półtrwania leku w fazie eliminacji, który uległ skróceniu. Dla pozostałych parametrów farmakokinetycznych nie zaobserwowano zmian ich wartości.

Drugą część badania wpływu propofolu na anestezję lokalną stanowiło badanie z użyciem bupiwakainy stosowanej miejscowo. W pierwszym etapie badania królikom podano sam lek miejscowo znieczulający w okolicę nerwu kulszowego w dawce 1 mg/kg m.c., a w etapie drugim dodatkowo podano wlew propofolu w dawce 5 mg/kg m.c. Oznaczono stężenia bupiwakainy i jej metabolitu pipekoliksyolidyny (PPX) w odpowiednich punktach czasowych od 0 do 360 minuty od podania leku.

Różnic istotnych statystycznie nie zaobserwowano dla parametrów farmakokinetycznych bupiwakainy, natomiast w przypadku PPX wykazano wolniejszą eliminację leku i wydłużenie czasu przebywania leku w ustroju po zastosowaniu propofolu. Z przeprowadzonej analizy statystycznej parametrów farmakokinetycznych wynika wzrost wartości MRT i  $t_{0,5\beta}$  oraz spadek wartości  $\beta$  i C max pomiędzy etapami.



## Chronopharmacokinetic studies of propofol

Propofol is a short-acting, intravenously administered hypnotic agent. It has many uses including the induction and maintenance of general anesthesia. Propofol is also used to sedate individuals who are receiving mechanical ventilation and for procedural sedation, for example during endoscopic procedures. Number of beneficial pharmacological properties – rapid and smooth onset of action, ease of awaking and low incidence of side effects make the drug very frequently used. Pharmacokinetic properties of propofol cause the drug is preferred in a one-day surgery where knowledge about agents modifying pharmacology of drugs is crucial.

The aim of this thesis is to evaluate chronopharmacokinetics of propofol and propofol influence on a pharmacokinetics of local anesthetics - lidocaine and bupivacaine. The survey was carried out on the three groups of rabbits – The New Zealand White.

To assess the influence of biological rhythms on the pharmacokinetics of propofol, the crossover trial was conducted on the group of 9 rabbits randomly allocated into the one of three groups. The study was carried out in three stages with a two week wash-out period. Prior to and during the trial animals were under conditions of 12 hours of artificial light and 12 hours of darkness. In each of the stages, at six-hour intervals (10:00, 16:00, 22:00), the rabbits were administered a single intravenous dose of propofol 5 mg/kg body mass. The concentrations of propofol were marked in the intervals ranging from 0 to 30 minutes.

For the pharmacokinetic parameters of propofol statistically significant difference was obtained for the elimination rate constant at 10:00, 16:00 and 22:00. No statistically significant differences were acquired for the other pharmacokinetic parameters at studied times of the day: AUC, AUMC, MRT, Cl, Vd.

It was attempted to evaluate the potential inhibiting properties of propofol on the metabolism of local anesthetics – lidocaine and bupivacaine. The trials were carried out with two groups of rabbits (n=10) in two stages.

In group one (n=10) animals were administered a single dose of lidocaine 3 mg/kg of body mass. Blood samples were collected in time from 0 to 240 min in two stages of trial. In the first stage only lidocaine was administered, while in the second

stage it was preceded by two intravenous infusions of propofol – 24 h and 15 min before local anesthetic.

Statistically significant differences between stages of the trial were shown only for the half life of elimination of lidocaine, which was shorter after previous propofol administration. No statistically significant differences were shown for the other pharmacokinetic parameters of lidocaine.

To evaluate the influence of propofol on a local anesthetic bupivacaine and its metabolite PPX pharmacokinetics the bupivacaine was administered into the area of sciatic nerve 1 mg/kg body mass. In the first stage only bupivacaine was given intramuscularly while in stage two it was combined with intravenous infusion of propofol in a dose 5 mg/kg body mass. Plasma bupivacaine and PPX concentrations were measured at time from 0 to 360 min.

There were no statistically significant differences in bupivacaine pharmacokinetic parameters between two stages of the trial. Statistically significant differences between the first and second stage were shown for the PPX elimination constant rate, half-life and maximum concentration.

1. Friedberg BL, Propofol in Office-Based Plastic Surgery, *Semin Plast Surg* 2007; 21(2): 129–132.
2. Vasileiou I, Xanthos T, Koudouna E, Perrea D, Klonaris Ch, Katsargyris A, Papadimitriou L: Propofol: A review of its non-anaesthetic effects, *Eur J Pharmacol* 2009; 605: 1 – 8.
3. Podlewski J. K., Chwalibogowska – Podlewska A., *Leki współczesnej terapii*, Wyd.20, Warszawa 2010, Medical Tribune Polska.
4. Schmidt J, Hering W, Albrecht S: Total intravenous anesthesia with propofol and remifentanyl. Results of a multicenter study of 6161 patients, *Anaesthesist* 2005; 54: 17 – 28.
5. Challet E, Gouremelen S, Oberling P, Pain L: Reciprocal relationship between general (propofol) anesthesia and circadian time in rats, *Neuropsychopharmacology* 2007; 32: 728-735.
6. Guitton J, Buronfosse T, Desage M, Flinois JP, Perdrix JP, Brazier JL, Beaune P: Possible involvement of multiple human cytochrome P450 isoforms in the liver metabolism of propofol, *Br J Anaesth* 1998; 80: 788 – 795.
7. Nakayama S, Miyabe M, Kakiuchi Y, Inomata S, Osaka Y, Fukuda T, Kohda Y, Toyooka H: Propofol Does Not Inhibit Lidocaine Metabolism During Epidural Anesthesia, *Anesth Analg* 2004; 99: 1131–5.
8. Yang LQ, Yu WF, Cao YF, Gong B, Chang Q, Yang GS: Potential inhibition of cytochrome P450 3A4 by propofol in human primary hepatocytes, *World J Gastroenterol* 2003; 9 (9): 1959 – 62.
9. McKillop D, Wild MJ, Butters CJ, Simcock C Effects of propofol on human hepatic microsomal cytochrome P450 activities. *Xenobiotica*. 1998; 28(9): 845 – 853.

10. Inomata S, Nagashima A, Osaka Y, Kazama T, Tanaka E, Sato S, Toyooka H: Propofol inhibits lidocaine metabolism in human and rat liver microsomes, *J Anesth* 2003; 17: 246 – 250.
11. Gantenbein M, Attolini L, Bruguerolle R, Villard PH, Puyooou F, Durand A, Lacarelle B, Hardwigsen J, Le-Treut YP: Oxidative metabolism of bupivacaine into pipecolylxylidine in humans is mainly catalyzed by CYP3A, *Drug Metab Dispos* 2000; 28 (4): 383 – 5.
12. Nakayama S, Miyabe M, Kakiuchi Y, Inomata S, Osaka Y, Fukuda T, Kohda Y, Toyooka H: Propofol does not inhibit lidocaine metabolism during epidural anesthesia, *Anesth Analg* 2004; 99: 1131 – 5.
13. Agarwal A, Pandey R, Dhiraaj S, Singh PK, Raza M, Pandey ChK, Gupta D, Choudhury A, Singh U: The effect of epidural bupivacaine on induction and maintenance of propofol (evaluated by bispectral index) and maintenance doses of fentanyl and vecuronium, *Anesth Analg* 2004; 99: 1684 – 8.
14. Ben-Shlomo I, Tverskoy M, Fleyshman G, Cherniavsky G: Hypnotic effect of i.v. propofol is enhanced by i.m. administration of either lignocaine or bupivacaine, *Br J Anaesth* 1997; 78: 375 – 377.
15. Mrozkiewicz A, *Chronofarmakologia, Farmakodynamika*, Red. Janiec W, Krupińska J, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2005; 75 – 82.
16. Chassard D, Brouerolle B: Chronobiology and anesthesia, *Anesthesiology* 2004; 100: 413 – 27.
17. Lemmer B: Chronobiology, drug delivery, and chronotherapeutics, *Advanced Drug delivery Reviews* 2007; 59: 825 – 827.
18. Grabowski T.: *Farmakokinytika i Biofarmacja*, [www.biokinetica.pl](http://www.biokinetica.pl), Warszawa 2010, 1-507, data wejścia 18.07.2011r.

19. Zawilska BJ, Nowak ZJ: Circadian rhythmicity and biological clock, *Sen* 2002/4; (2): 127 – 136.
20. Lydic R, Schoene WC, Czeisler CA, Moore-Ede MC: Suprachiasmatic region of the human hypothalamus: homolog to the primate circadian pacemaker?, *Sleep* 1980; 2: 355 – 362.
21. Andrys-Wawrzyniak I, Jabłecka A: Chronobiologia, chronofarmakologia i ich miejsce w medycynie (część I), *Farmacja współczesna* 2008; 1: 94 – 108.
22. Shanahan LT, Czeisler AC, Physiological effect of light on the circadian pacemaker, *Seminars in perinatology* 2000; 4 (24): 299 – 320.
23. Mrozkiewicz A., Elementy chronofarmakologii, *Farmakologia. Podstawy farmakoterapii. Tom I*, Red. Kostowski W., Herman S.Z., Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2008; 170 – 174.
24. Dawson D, Armstrong MS: Chronobiotics – Drugs That Shifts Rhythms, *Pharmacol. Ther.* 1996; 1 (69); 15 – 36.
25. Simpson HW: Double blind trial of a possible chronobiotic (Quiadon); field studiem In N. W. Greenland., *Int J Chronobiol* 1973; 1: 287 – 311.
26. Chassard D, Duflo F, de Queiroz Siqueira M, Allaouchiche B, Boselli E: Chronobiology and anesthesia, *Current Opinion in Anesthesiology* 2007; 20: 186 – 190.
27. Dispersyn G, Toutou Y, Coste O, Jouffroy L, Llew CJ, Challet E, Pain L: Desynchronization of daily rest – activity rhythm in the days following light propofol anesthesia for colonoscopy, *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 2009; 85 (1); 51 – 55.
28. Lemmer B: The clinical relevance of chronopharmacology in therapeutics, *Pharmacological Research*, Vol.33 No 2, 1996.
29. Markiewicz A., Znaczenie biorytmów w terapii monitorowanej, *Terapia monitorowana*, Red: Adamska – Dyniewska H., Towarzystwo Terapii Monitorowanej Łódź 1994, 50 – 55.

30. Smolensky HM, Haus E: Circadian rhythms and clinical medicine with application to hypertension, *American Journal of Hypertension*, 2001; 14: 280 – 290.
31. Levi F: Circadian chronotherapy for human cancers, *The Lancet Oncology*, 2001; 2: 307 – 315.
32. Bruguerolle B, Labrecque G, Rhythmic pattern in pain and their chronotherapy, *Advanced Drug Delivery Reviews* 2007; 59: 883 – 895.
33. Mignot A, Kaczmarek D: Can general anesthesia induce a "jet-lag" effect ? Centre national de la recherche scientifique Paris, June 8, 2006; [www2.cnrs.fr/en/549.htm?debut=482](http://www2.cnrs.fr/en/549.htm?debut=482); Data wejścia 18.07.2011r.
34. Bruguerolle BV, Prat M: Chronotoxicity and chronokinetics of two local anaesthetic agents bupivacaine and mepivacaine in mice, *Annu Rev Chronopharmacol* 1988; 5: 227 – 230.
35. Debon R, Chassard D, Duflo F, Boselli E, Bryssine B, Allaouchiche B: Chronobiology of epidural ropivacaine: variations in the duration of action related to the hour of administration, *Anesthesiology* 2004; 101: 978 – 982.
36. Pan PH, Lee S, Harris L: Chronobiology of subarachinoid fentanyl for labor analgesia, *Anesthesiology* 2005; 103: 595 – 599.
37. Bruguerolle B, Giaufre E, Prat M: Temporal variations in transcutaneous passage of drugs: the example of lidocaine in children and in rats. *Chronobiol Int* 1991; 8: 277 – 282.
38. Kobayashi K, Takemori K, Sakamoto A: Circadian gene expression is suppressed during sevoflurane anesthesia and the suppression persists after awakening, *Brain Reserch* 2007; 1185: 1 – 7.

39. Yoshida Y, Nakazato K, Takemori K, Kobayashi K, Sakamoto A: The influences of propofol and dexmedetomidine on circadian gene expression in rat brain, *Brain Research Bulletin* 2009; 79:441 – 444.
40. Bienert A, Płotek W, Zawidzka I, Ratajczak N, Szczesny D, Wilczling P, Kokot Z, Matysiak J, Grześkowiak E: Influence of time of the day on propofol pharmacokinetics and pharmacodynamics in rabbits; *Chronobiol Int* 2011; 28 (4): 318 – 329.
41. Brennan MJW, Volicer L, Moore-Ede MC, Borsook D: Daily rhythms of benzodiazepine receptor numbers in frontal lobe and cerebellum in the rat, *Life Sci* 1985; 36: 2333 – 2337.
42. Kantarewicz B, Rosenstein RE, Golombek DA, Yannielli PC, Cardinali DP: Daily variations in GABA receptors function in Syrian hamster cerebral cortex, *Neurosci Lett* 1995; 200: 211 – 213.
43. Karkela J, Vakkuri O, Kaukinen S, Huang QW, Pasanem M: The influence of anaesthesia and surgery on the circadian rhythm of melatonin, *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 2002; 46: 30 – 36.
44. Pang SC, Mulnier C, Pang FS: Effects of halothane, pentobarbital and ketamine on serum melatonin levels in the early scotophase in new zeland white rabbits, *Biol Signals Recept* 2001; 10: 310 – 316.
45. Healthcare.com, More information about propofol:  
<http://www.healthcare.com/medications/more-information-about-propofol-drug.php>, data wejścia 20.01.2012r.
46. Centrum informacji o leku, Plofed: <http://leki-informacje.pl/lek/charakterystyka-szczegolowa/957,plofed-1.html>, data wejścia 20.01.2012r.
47. Chemblink Online Database of Chemicals from Around the World, Propofol:  
<http://www.chemblink.com/products/2078-54-8.htm>, data wejścia 20.01.2012r.

48. Aijun X, Shiming D, Yuke T: Effects of intracerebroventricular NMDA and non-NMDA receptor agonists or antagonists on general anesthesia of propofol in mice, *Front.Med.China* 2007; 1(2): 207 – 210.
49. Campagna-Slater V, Weave DF: Anaesthetic binding sites for etomidate and propofol on a GABAA receptor model, *Neuroscience Letters* 2007; 418: 28 – 33.
50. Sonner JM, Zhang Y, Stabernack C, Abaigar W, Xing Y, Laster MJ: GABA<sub>A</sub> Receptor Blockade Antagonizes the Immobilizing Action of Propofol but Not Ketamine or Isoflurane in a Dose-Related Manner, *Anesth Analg* 2003; 96: 706 – 712.
51. Langwiński R, *Farmakodynamika leków ośrodkowego układu nerwowego, Farmakodynamika*, Red. Janiec W., Krupińska J., Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2005; 167 – 246.
52. Garcia P, Kolesky S, Jenkins A: General Anesthetic Actions on GABA<sub>A</sub> Receptors; *Curr Neuropharmacol.* 2010; 8(1): 2 – 9.
53. Fagerlund MJ, Sjodin J, Krupp J, Dabrowski MA, Reduced effect of propofol at human  $\alpha 2\beta 3(N290M)\gamma 2$  and  $\alpha 2\beta 3(N289M)\gamma 2$  mutant GABA<sub>A</sub> receptors, *Br J Anaesth* 2010; 104 (4): 472 – 481.
54. Rudolph U, Mohler H: Analysis of GABA<sub>A</sub> receptor function and dissection of the pharmacology of benzodiazepines and general anesthetics through mouse genetics, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2004; 44: 475 – 489.
55. National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism, Schematic drawing of the  $\gamma$ -aminobutyric acid receptor (GABAA) ligand gated ion channel complex:  
[http://www.niaaa.nih.gov/Resources/GraphicsGallery/Neuroscience/Pages/gaba\\_receptor.aspx](http://www.niaaa.nih.gov/Resources/GraphicsGallery/Neuroscience/Pages/gaba_receptor.aspx), data wejścia 6.02.2012r.
56. Guindon J, LoVerme J, Piomelli D, Beaulieu P: The antinociceptive effects of local injections of propofol in rats are mediated in part by cannabinoid CB<sub>1</sub> and CB<sub>2</sub> receptors, *Anesth Analg* 2007; 104: 1563 – 9.



57. Ghasemi M, Schachter SC: The NMDA receptor complex as therapeutic target in epilepsy: a review, *Epilepsy and Behavior* 2011; 22: 617 – 640.
58. Kingston S, Mao L, Yang L, Arora A, Fibuch EE, Wang JQ: Propofol inhibits phosphorylation of N-methyl-D-aspartate receptor NR1 subunits in neurons, *Anesthesiology* 2006; 104 (4): 763 – 9.
59. Barann M, Linden L, Witten S, Urban BW: Molecular actions of propofol on human 5-HT<sub>3A</sub> receptors: enhancement as well as inhibition by closely related phenol derivatives, *Anesth Analg* 2008; 106: 846 – 857.
60. Rüsç D, Hans A, Braun HA, Wulf H, Schuster A, Raines DE: Inhibition of human 5-HT<sub>3A</sub> and 5-HT<sub>3AB</sub> receptors by etomidate, propofol and pentobarbital, *Eur J Pharmacol* 2007; 573: 60 – 64.
61. Larsen R, *Anestezjologia*, red. Kübler A., Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2003; 76 – 77, 116 – 117, 166 – 176, 186 – 189, 925, 1035, 1145.
62. Centrum informacji o leku, Diprivan, [http://leki-informacje.pl/lek/charakterystyka-szczegolowa/351,diprivan,3.html#t\\_5\\_2](http://leki-informacje.pl/lek/charakterystyka-szczegolowa/351,diprivan,3.html#t_5_2), data wejścia 20.01.2012r.
63. White PF, Propofol, *Intravenous Anaesthesia*, Red: White PF, Williams & Wilkins Baltimore 1997, 111 – 152.
64. AstraZeneca Pharmaceuticals United States, Diprivan, <http://www1.astrazeneca-us.com/pi/diprivan.pdf>, data wejścia 20.01.2012r.
65. Lundström S, Twycross R, Mihalyo M, Wilcock A: Therapeutic reviews: propofol, *J Pain Symptom Manage* 2010; 40 (3): 466 – 469.
66. Court MH, Duan SX, Hesse LM, Venkatakrisnan K, Greenblatti DJ: Cytochrome P-450 2B6 is responsible for interindividual variability of propofol hydroxylation by human liver microsomes, *Anesthesiology* 2001; 94 (1): 110 – 119.

67. Hiraoka H, Yamamoto K, Miyoshi S, Morita T, Nakamura K, Kadoi Y, Kunimoto F, Horiuchi R: Kidneys contribute to the extrahepatic clearance of propofol in humans, but not lungs and brain, *Br J Clin Pharmacol.* 2005; 60 (2): 176 – 182.
68. Lin AL, Shangari N, Chan TS, Ramirez D, O'Brien PJ: Herbal monoterpene alcohols inhibit propofol metabolism and prolong anesthesia time, *Life Sciences* 2006; 79: 21 – 29.
69. Coskun D, Celebi H, Karaca G, Karabiyik L: Remifentanil versus fentanyl compared in a target-controlled infusion of propofol anesthesia: quality of anesthesia and recovery profile, *J Anesth* 2010; 24: 373 – 379.
70. Lundström S, Zachrisson U, Fürst CJ: When nothing helps: propofol as sedative and antiemetic in palliative cancer care, *J Pain Symptom Manage* 2005; 30 (6): 570 – 577.
71. Lisowska B: Sedacja i znieczulenie do badań diagnostycznych, *Geriatrics* 2007; 1: 55 – 59.
72. Borgeat A, Wilder-Smith OH, Saiah M, Rifat K: Subhypnotic doses of propofol possess direct antiemetic properties, *Anesth Analg* 1992; 74: 539 – 41.
73. Soppitt AJ, Glass PSA, Howell S, Weatherwax K, Gan TJ: The use of propofol for its antiemetic effect: a survey of clinical practice in the United States, *J.Clin.Anesth.*2000; 12: 265 – 269.
74. Ohomori H, Sato Y, Namiki A: The anticonvulsant action of propofol on epileptiform activity in rat hippocampal slices, *Anesth Analg* 2004; 99: 1095 – 101.
75. Wang B, Shrivah J, Luo H, Raedschelders K, Chen DDY, Ansley DM: Propofol protects against hydrogen peroxide-induced injury in cardiac H9c2 cells via Akt activation nad Bcl-2 up-regulation, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009; 389: 105 – 111.
76. Yuzer H, Yuzbasioglu MF, Ciralik H , Kurutas EB, Ozkan OV, Bulbuloglu E, Atli Y, Erdogan O, Kale IT: Effects of intravenous anesthetics on renal ischemia/reperfusion injury, *Ren. Fail.* 2009; 31: 290 – 296.

77. Ansley D: Propofol reduces hydrogen peroxide induced cardiac and endothelial cell apoptosis: role of Akt survival signaling pathway, *Can J Anaesth* 2007; 54 (1): 44504.
78. Fourcade O, Simon MF, Litt L, Samii K, Chap H: Propofol inhibits human platelet aggregation induced by proinflammatory lipid mediators, *Anesth Analg* 2004; 99: 393 – 398.
79. Iwama H: A randomized, double – blind trial comparing the effect of mixing propofol with lidocaine or nafamostat mesilate on injection pain, *J Anesth* 2000; 14: 164 – 165.
80. Kinoshita H, Kakutani T, Minonishi T, Mizumoto K, Hatano Y: Transient phlebitis induced by a bolus injection of propofol, *J Anesth* 2006; 20: 74 – 75.
81. Pérez Riera AR, Uchida AH, Schapachnik E, Dubner S, Ferreira Filho C, Ferreira C: Propofol infusion syndrome and Brugada syndrome electrocardiographic phenocopy, *Cardiol J* 2010; 17(2): 130 – 5.
82. Zuccherro MM, Buchar HD: Propofol infusion syndrome. A rare complication with potentially fatal results, *Critical Care Nurse* 2008; 28 (3): 18 – 27.
83. Vuyk J: Pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions between opioids and propofol, *J. Clin. Anesth.* 1997; 9: 23 – 26.
84. Schraag S, Mohl U, Bothner U, Georgieff M: Interaction modeling of propofol and fentanyl on loss of consciousness, *J. Clin. Anesth.* 1999; 11: 391 – 396.
85. Kazama T, Ikeda K, Morita K: reduction by fentanyl of the Cp50 values of propofol and hemodynamic response to various noxious stimuli, *Anesthesiology* 1997; 87 (2): 213 – 27.
86. Hamaoka N, Oda Y, Hase I, Mizutani K, Nakamoto T, Ishizaki T, Asada A: Propofol decrease the clearance of midazolam by inhibiting CYP 3A4: An in vivo and in vitro study, *Clinical Pharmacol Ther* 1999; 66 (2): 110 – 117.
87. Higuchi H, Adachi Y, Dahan A, Olofsen E, Arimura S, Mori T, Satoh T: The interaction between propofol and clonidine for loss of consciousness, *Anesth Analg* 2002; 94: 886 – 91.

88. Greenberg MF, Pollard ZF: Adult strabismus surgery under propofol sedation with local versus general anesthesia, *Journal of AAPOS* 2003; 7 (2): 116 – 120 .
89. Osaka Y, Inomata S, Tanaka E, Nakamura T, Honda K, Miyabe M, Toyooka H, Tanaka M: Effects of propofol on ropivacaine metabolism in human liver microsomes, *J Anesth* 2006; 20: 60 – 63.
90. Odedra D, Lyons G: Local anaesthetic toxicity, *Current Anaesthesia & Critical Care* 2010; 21: 52 – 54.
91. Malec D, Langwiński R: Farmakodynamika leków działających na zakończenia czuciowe, *Farmakodynamika*, Red. Janiec W., Krupińska J., Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2005; 126 – 138.
92. Omoigui S: *Leki anestezjologiczne*,  $\alpha$ -Medica Press, Bielsko-Biała 1995; 35 – 39, 145 – 150.
93. Nau C, Wang SY, Strichartz GR, Wang GK: Block of human heart hH1 sodium channel by the enantiomers of bupivacaine, *Anesthesiology* 2000; 93: 1022 – 1033.
94. Yudcovitch LB: The use of anesthetics, steroids, non-steroidals, and central-acting analgesics in the management of ocular pain, Pacific University Oregon, <http://www.pacificu.edu/optometry/ce/courses/22746/ocularpainpg3.cfm>, data wejścia 10.02.2012r.
95. Edgcombe H, Hocking D: *Local Anaesthetic Pharmacology*, 2005; Anaesthesia UK, <http://www.frca.co.uk/article.aspx?articleid=100505>, data wejścia 10.02.2012r.
96. Chemblink Online Database of Chemicals from Around the World, Lidocaine: [http://www.chemblink.com/MSDS/MSDSFiles/137-58-6\\_Sigma-Aldrich.pdf](http://www.chemblink.com/MSDS/MSDSFiles/137-58-6_Sigma-Aldrich.pdf), data wejścia 09.02.2012r.
97. PubChem - free database of chemical structures, Lidocaine: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=3676>, data wejścia 09.02.2012r.

98. Centrum informacji o leku, Lidokaina, <http://leki-informacje.pl/lek/ulotka/674,lignocainum-hydrochloricum-wzf-2-20-mg-ml.html>, data wejścia 10.02.2012r.
99. Chemblink Online Database of Chemicals from Around the World, Lidocaine: [http://www.chemblink.com/MSDS/MSDSFiles/137-58-6\\_Science%20Lab.pdf](http://www.chemblink.com/MSDS/MSDSFiles/137-58-6_Science%20Lab.pdf), data wejścia 09.02.2012r.
100. Zając M, Pawełczyk E: Chemia leków, Akademia Medyczna im. Karola Marcinkowskiego, Poznań 2000, 242 – 246.
101. PubChem - free database of chemical structures, Bupivacaine: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=2474>, data wejścia 09.02.2012r.
102. Chemblink Online Database of Chemicals from Around the World, Bupivacaine: [http://www.chemblink.com/MSDS/MSDSFiles/2180-92-9\\_Spectrum.pdf](http://www.chemblink.com/MSDS/MSDSFiles/2180-92-9_Spectrum.pdf), data wejścia 10.02.2012r.
103. Centrum informacji o leku, Lidokaina: <http://leki-informacje.pl/lek/charakterystyka-szczegolowa/1413,xylocaine-2.html>, data wejścia 10.02.2012r.
104. Centrum informacji o leku, Bupiwakaina: <http://leki-informacje.pl/lek/charakterystyka-szczegolowa/731,marcaine-0-5.html>, data wejścia 10.02.2012r.
105. Dobrogowska J: Farmakokinetyka lidokainy z buforowanych roztworów do znieczuleń miejscowych, rozprawa doktorska 2002; 8 – 21.
106. Muñoz AE, Miguez C, Rubio M, Bartellini M, Levi D, Podestá A, Niselman V, Terg R: Lidocaine and monoethylglycinexylidide serum determinations to analyze liver function of cirrhotic patients after oral administration, Dig Dis Sci 1999; 44: 789 – 795.

107. Pang KS, Terrell JA, Nelson SD, Feuer KF, Clements MJ, Endrenyi L: An enzyme – distributed system for lidocaine metabolism in the perfused rat liver preparation, *J Pharmacokinet Biopharm* 1986; 14 (2): 107 – 130.
108. Fukuda T, Kakiuchi Y, Miyabe M, Okubo N, Yaguchi Y, Kohda Y, Toyooka H: Plasma lidocaine, monoethylglycinexylidide and glycinexylidide concentrations after epidural administration in geriatric patients, *Reg Anesth Pain Med* 2000; 25 (3): 268 – 273.
109. Kihara S, Miyabe M, Kakiuchi Y, Takahashi S, Fukuda T, Kohda Y, Toyooka H: Plasma concentration of lidocaine and its principal metabolites during continuous epidural infusion of lidocaine with or without epinephrine, *Reg Anesth Pain Med* 1999; 24 (6): 529 – 533.
110. Fabris L, Jemmolo RM, Toffolo G, Paleari D, Viaggi S, Rigon M, Casagrande F, Lirussi F, Strazzabosco M, Cobelli C, Okolicsanyi L: The monoethylglycinexylidide test for grading of liver cirrhosis, *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13: 67 – 75.
111. Ben Said D, Ben Ali R, Ferchichi H, Salouage I, Ouanes L, Gaies E, Trabelsi S, Kooli E, Kourda N, Abdelmoula J, Mohamed L, Klouz A: Lidocaine test for easier and less time consuming assessment of liver function in several hepatic injury models, *Hepatol Int* 2011; 5: 941 – 948.
112. Orlando R, Piccoli P, De Martin S, Padrini R, Floreani M, Palatini P: Cytochrome P450 1A2 is a major determinant of lidocaine metabolism in vivo: Effects of liver function, *Clin Pharmacol Ther* 2004; 75: 80 – 88.
113. Carvalho Cavalli R, Lanchote VL, Duarte G, Moises Dantas ECh, Massoni de Prado MF, Barros de Duarte L, Pereira da Cunha S: Pharmacokinetics and transplacental transfer of lidocaine and its metabolite for perineal analgesic assistance to pregnant women, *Eur J Clin Pharmacol* 2004; 60: 569 – 574.
114. De Martin S, Orlando R, Bertoli M, Pegoraro P, Palatini P: Differential effect of chronic renal failure on the pharmacokinetics of lidocaine in patients receiving and not receiving hemodialysis, *Clin Pharmacol Ther* 2006; 80: 597 – 606.

115. Alexson SEH, Diczfalusy M, Halldin M, Swedmark S: Involvement of liver carboxylestrases in the in vitro metabolism of lidocaine, *Drug Metab Dispos* 2002; 30 (6): 643 – 647.
116. Wang JS, Backman JT, Taavitsainen P, Neuvonen PJ, Kivisto KT: Involvement of CYP1A2 and CYP3A4 in lidocaine N-deethylation and 3-hydroxylation in humans, *Drug Metab Dispos* 2000; 28 (8): 959 – 965.
117. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway – drug metabolism, Lidocaine:  
[http://www.genome.jp/kegg-bin/show\\_pathway?ko00982](http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?ko00982), data wejścia 12.02.2012r.
118. Wu TY, Kao YL, Lin LC, Tsai TH: Effects of a P-glycoprotein modulator on the pharmacokinetics and distribution of free levobupivacaine and bupivacaine in rats, *Int J Pharm* 2010; 396: 127 – 133.
119. Ledger R: Nonaromatic hydroxylation of bupivacaine during continuous epidural infusion in man, *J Biochem Biophys Methods* 2003; 57: 105 – 114.
120. Reynolds F: Metabolism and excretion of bupivacaine in man: a comparison with mepivacaine, *Br J Anaesthesia* 1971, 43 (1): 33 – 37.
121. Fawcett JP, Kennedy J, Kumar A, Ledger R, Zacharias M: Stereoselective urinary excretion of bupivacaine and its metabolites during epidural infusion, *Chirality* 1999; 11: 50 – 55.
122. Balcerkiewicz M: Farmakokinetyczna ocean wybranych, modelowych postaci leku z bupiwakainą i ropiwakainą – rozprawa doktorska, Poznań 2008, 18 – 24.
123. Ostad A, Kageyama N, Moy RL: Tumescant anesthesia with lidocaine dose of 55 mg/kg is safe for liposuction, *Dermatolog Surg* 1996; 22: 921 – 927.
124. Bill TJ, Mark AC, Morgan RF, Gampper TJ: Lidocaine metabolism: patophysiology, drug interactions and surgical implications, *Aesthetic Surgery Journal* 2004; 24 (4): 307 – 310.

125. Piątkowski J, Kucewicz E, Fryc-Stanek J, Knapik P, Misiołek H, Oliwa M: Ocena porównawcza bupiwakainy i ropiwakainy w znieczuleniu zewnątrzoponowym do cięcia cesarskiego, *Anestezjologia Intensywna Terapia* 2007; 1: 17 – 21.
126. Sakura S, Kirihara Y, Muguruma T, Kishimoto T, Saito Y: The comparative neurotoxicity of intrathecal lidocaine and bupivacaine in rats, *Anesth Analg* 2005; 101: 541 – 547.
127. Hindle AT, Columb MO, Shah MV: Drug interactions and anaesthesia, *Current Anaesthesia and Critical Care* 1995; 6: 103 – 112.
128. Orszulak – Michalak D, Owczarek J, Wiktorowska-Owczarek AK: The influence of midazolam on plasma concentrations and pharmacokinetic parameters of lidocaine in rabbits, *Pharmacol Res* 2002; 45(1): 11 – 13.
129. Maeda Y, Funakoshi S, Nakamura M, Fukuzawa M, Kugaya Y, Yamasaki M, Tsukiai S, Murakaami T, Takano M: Possible mechanism for pharmacokinetic interaction between lidocaine and mexiletine, *Clin Pharmacol Ther* 2000; 71: 389 – 397.
130. Tigka E, Saranteas T, Mourozis I, Kotsiou A: The influence of clonidine co-administration on the extent of lidocaine protein binding to rat serum tissues, *Journal of Oral Science* 2011; 53 (1): 61 – 66.
131. Kanazi GE, Aouad MT, Jabbour-Khoury SI, Al Jazzar MD, Alameddine MM, Al-Yaman R, Bulbul M, Baraka AS: Effect of low-dose dexmedetomidine or clonidine on characteristics of bupivacaine spinal block, *Acta Anaesthesiol Scand* 2006; 50: 222 – 227.
132. Tejwani GA, Rattan AK, McDonald JS: Role of spinal opioid receptors in the antinociceptive interactions between intrathecal morphine and bupivacaine, *Anesth Analg* 1992; 74: 726 – 734.
133. Polley LS, Columb MO, Naughton NN, Wagner DS, Dorantes DM, van de Ven CJM: Effect of intravenous versus epidural fentanyl on the minimum local analgesic concentration of epidural bupivacaine in labor, *Anesthesiology* 2000; 93 (1): 122 – 128.



134. Isohanni MH, Neuvonen PJ, Palkama VJ, Olkkola KT: Effect of erythromycin and itraconazole on the pharmacokinetics of intravenous lignocaine, *Eur J Clin Pharmacol* 1998; 54: 561 – 565.
135. Palkama VJ, Neuvonen PJ, Olkkola KT: Effect of itraconazole on the pharmacokinetics of bupivacaine enantiomers in healthy volunteers, *Br J Anaesth* 1999; 83 (4): 659 – 661.
136. Saranteas T, Mourouzis C, Koumoura , Tesseromatis Ch: Effects of propranolol or paracetamol on lidocaine concentrations in serum and tissues, *J Oral Maxillofac Surg* 2003; 61: 604 – 607.
137. Olkkola KT, Isohanni MH, Hamunen K, Neuvonen PJ: The effect of erythromycin and fluvoxamine on the pharmacokinetics of intravenous lidocaine, *Anest Analg* 2005; 100: 1352 – 1356.
138. Attoni L, Gantenbein M, Bruguerolle B: Effects of tobacco smoke exposure on the kinetics of bupivacaine in mice, *Life Sci* 1997; 60 (10): 725 – 734.
139. Plummer GF: Improved method for the determination of propofol in blood by high performance liquid chromatography with fluorescence detection, *J Chromatogr* 1987; 421 (1): 171 – 176.
140. Szczepaniak W: *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2002, 41 – 54.
141. Kobylińska K: *Walidacja metody analitycznej dla badań równoważności biologicznej*, Red. Marzec A, Wydawnictwo Oinpharma, Warszawa 2007, 239 – 264.
142. Dawidowicz AL., Fornal E, Fijałkowska A: Determining the influence of storage time on the level of propofol in blood samples by means of chromatography, *Biomed Chromatogr* 2000; 14: 249 – 255.

143. Shou-Zen F, Hsiu Ying Y, Yung-Liang Ch, Chien-Chiang L: Propofol concentration monitoring in plasma or whole blood by gas chromatography and high performance liquid chromatography, *Anesth Analg* 1995; 81: 175 – 178.
144. Bienert A, Żaba Z, Dyderski S, Ogrodowicz M, Drobnik L: Long-term stability of propofol in human plasma and blood in different storage conditions, *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research* 2005; 62 (2): 95 – 97.
145. Brzeziński R: Wpływ inhibitorów i aktywatorów izoenzymu CYP 3A4 na wartości testu lidokainowego – rozprawa doktorska, Poznań 2008; 72.
146. Szymura-Oleksiak J: Farmakokinetyka niezależna od modelu. *Chemia fizyczna. Podręcznik dla studentów farmacji i analityki medycznej*. Red. Hermann T., Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2007; 614 – 617.
147. Sato Y, Kobayashi E, Hakamata Y, Kobahashi M, Wainai T, Murayama T, Mishina M, Seo N: Chronopharmacological studiem of ketamine in normal and NMDA  $\epsilon$ 1 receptor knockout mice, *Br J Anaesth* 2004; 92: 859 – 864.
148. Nelson NP., Guo M: The sedative component of anesthesia is mediated by GABA(A) receptors in an endogenous sleep pathway, *Nature Neurosci* 2002; 5: 979 – 984.
149. Wu CL, Berenholtz SM, Pronovost PJ, Fleisher LA: Systematic review and analysis of postdischarge symptoms after outpatient surgery, *Anesthesiology* 2002; 96: 994 – 1003.
150. Guo X, Kuzumi E, Charman SC, Vuylsteke A: Perioperative melatonin secretion in patients undergoing coronary artery bypass grafting, *Anesth Analg* 2002; 94: 1085 – 1091.
151. Karkela J, Vakkuri O, Kaukinen S, Huang WQ, Pasanen M: The influence of anaesthesia and surgery on the circadian rhythm of melatonin, *Acta Anaesthesiol Scand* 2002; 46: 30 – 36.
152. Sato Y, Seo N, Kobayashi E: The dosing-time dependent effects of intravenous hypnotics in mice, *Anesth Analg* 2005; 101: 1706 – 1708.

153. Jaliffa CO, Saenz D, Resnik E, Keller Sarmiento MI, Rosenstein RE: Circadian activity of the GABAergic system in the golden hamster retina, *Brain Res* 2001; 912: 195 – 202.
154. Bruguerolle B: Chronopharmacokinetics current status, *Clin Pharmacokinet* 1998; 35 (2): 83 – 94.
155. Furukawa T, Manabe S, Watanabe T, Sharyo S, Mori Y: Sex difference in daily rhythm of hepatic P450 monooxygenase activities in rats is regulated by growth hormone release, *Toxicol Appl Pharmacol* 1999; 161: 219 – 224.
156. Bruguerolle B, Prat M: Temporal variations in the erythrocyte permeability to bupivacaine, etidocaine and mepivacaine in mice, *Life Sci* 1990; 45: 2587 – 2590.
157. Bruguerolle B, Prat M: Circadian phase-dependent protein and tissue binding of three local anesthetics (bupivacaine, etidocaine and mepivacaine in mice: a possible mechanism of their chronotoxicokinetics? *Chronobiol Int* 1992; 9: 448 – 452.
158. Uvelin A, Stanisavljević S: intubation using lidocaine, low dose rocuronium, remifentanyl and propofol-what should we know?, *Can J Anesth* 2009; 56: 872 – 873.
159. Suresh S, Wheeler M: Practical pediatric regional anesthesia, *Anesthesiol Clin North America* 2002; 20 (1): 83 – 113.
160. Sasaki T, Okamura S, Kisara A, Ito M, Yogosawa K, Yagishita Y, Yogosawa T: Effect of lidocaine on pain caused by injection of propofol: comparison of three methods at two injection rates, *J Anesth* 1999; 13: 14 – 16.
161. Tverskoy M, Shagal M, Finger J, Kissin I: Subarachnoid bupivacaine blockade decreases midazolam and thiopental hypnotic requirements, *J Clin Anesth* 1994; 6: 487 – 490.
162. Tverskoy M, Fleyshman G, Bachrak L, Ben-Shlomo I: Bupivacaine-induced spinal block reduces the hypnotic requirement of propofol, *Anaesthesia* 1996; 51: 652 – 653.

163. Gemayel J, Geloën A, Mion F: Propofol-induced cytochrome P450 inhibition. An in vitro and in vivo study in rats, *Life Sci* 2001; 68: 2957 – 2965.
164. Lichtenbelt BJ, Olofsen E, Dahan A, van Kleef JW, Struys MRF, Vuyk J: Propofol reduces the distribution and clearance of midazolam, *Anesth Analg* 2010; 110 (6): 1597 – 1606.
165. Leung BP, Miller E, Park GR: The effect of propofol on midazolam metabolism in human liver microsome suspension, *Anaesthesia* 1997; 52: 945 – 948.
166. Corpataux JM, Munafo A, Buclin T, Biollaz J, Mosimann F: A preliminary evaluation of the discriminative power of the monoethylglycinexylidide formation test after intravenous and oral administration of lidocaine, *Transplant Proc* 2001; 33: 2557 – 2562.
167. Jebbarl H, Boussofara M, Drldl M, Essales M, Klouz A, Lakhall M: Effect of propofol on bupivacaine pharmacokinetic after combined lumbar plexus and sciatic nerve block, *Regional Anesthesia and Pain Medicine* 2007, 32 (5): 125.
168. Ping H, Zhen-Fu C, Shao-Qing X, Ming L, Jian W, Guo-Qing Z, Lin Z, Lin-Fang L, Meng-Chao W: An in vivo rat model for assessment of extrahepatic metabolism, *J Pharmacol Toxicol Methods* 2001; 45: 181 – 185.