

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Wydział Medycyny Weterynaryjnej

Katedra i Klinika Chirurgii

lek. wet. Sonia Lachowska

ROZPRAWA DOKTORSKA

Wieloetapowe badania oceniające wpływ znieczulenia

tyletaminą i zolazepamem u psów

dążące do ograniczenia emisji

szkodliwych czynników środowiskowych

Promotor

prof. dr hab. Zdzisław Kiełbowicz

Promotor pomocniczy

dr n. wet. Agnieszka Antończyk

Wrocław 2022

*„Wszystkie nasze marzenia mogą stać się rzeczywistością,
jeśli mamy odwagę je realizować”*

Walt Disney

Dedykuję tę pracę mojemu Piotrowi, który każdego dnia
dodaje mi odwagi...

Spis treści

1. Wprowadzenie.....	6
2. Wpływ gazów anestetycznych na środowisko	7
3. Tyletamina i zolazepam.....	10
4. Wpływ kombinacji tyletamina-zolazepam na organizm.....	12
4.1. Wpływ na układ krążeniowo-oddechowy.....	12
4.2. Wpływ na wybudzenie.....	13
5. Indukcja i podtrzymanie znieczulenia.....	15
6. TIVA- całkowite znieczulenie dożylne.....	17
7. Cele i założenia pracy	18
7.1 Założenia.....	18
7.2. Cele.....	19
8. Etap I.....	21
8.1. Materiały i metody.....	21
8.1.1. Zwierzęta	21
8.1.2. Procedura anestezjologiczna.....	22
8.1.3. Metoda Up-and-Down Dixona.....	23
8.1.4. Wyznaczanie MAC-ISO	24
8.1.5. Schemat doświadczenia	25
8.1.6. Analiza statystyczna etapu I	26
8.2. Wyniki etapu I.....	26
8.2.1. Wartość MAC-ISO	26
8.2.2. Częstotliwość rytmu serca.....	27
8.2.3. Liczba oddechów na minutę	28
8.2.4. Ciśnienie tętnicze krwi	29
8.2.4.1. Tętnicze ciśnienie skurczowe krwi.....	29
8.2.4.2. Tętnicze ciśnienie rozkurczowe krwi.....	30
8.2.4.3. Średnie ciśnienie tętnicze krwi	31
8.2.4.4. Stężenie dwutlenku węgla w wydychanym powietrzu.....	32
8.2.4.5. Temperatura wewnętrzna ciała.....	33
9. Etap II	35
9.1. Materiały i metody.....	35
9.1.1. Zwierzęta	35
9.1.2. Dobór grup	36
9.1.3. Procedura przedanestetyczna.....	36
9.1.4. Procedura anestezjologiczna śródzabiegowa	37
9.1.4.1. Grupa TZ.....	37

9.1.4.2. Grupa P	38
9.1.4.3. Monitoring śródzabiegowy pacjentów	38
9.1.6. Analiza statystyczna etapu II	39
9.2. Wyniki etapu II	40
9.2.1. Indukcja znieczulenia	40
9.2.2. Liczba oddechów	41
9.2.3. Częstotliwość rytmu serca na minutę	42
9.2.4. Ciśnienie tętnicze krwi	43
9.2.4.1. Tętnicze ciśnienie skurczowe krwi	43
9.2.4.2. Tętnicze ciśnienie rozkurczowe krwi	44
9.2.4.3. Średnie ciśnienie tętnicze krwi	45
9.2.5. Stężenie dwutlenku węgla w wydychanym powietrzu	47
9.2.6. Temperatura wewnętrzna ciała	48
9.2.7. Saturacja krwi	49
10. Etap III	51
10.1. Materiały i metody	51
10.1.1. Dobór grup	51
10.1.2. Warunki środowiska wybudzeniowego	52
10.1.3. Metody oceny pacjentów	52
10.1.4. Dodatkowe procedury	56
10.1.5. Zakończenie etapu	56
10.1.6. Analiza statystyczna etapu III	56
10.2. Wyniki etapu III	58
10.2.1. Ocena jakości wybudzenia pacjenta (SASL)	58
10.2.2. Ocena czasu wybudzenia się pacjentów	62
10.2.3. Ocena skali bólu	66
11. Dyskusja	68
12. Wnioski	82
13. Streszczenie	84
14. Abstract	88
15. Piśmiennictwo	91
16. Spis tabel	104
17. Spis rycin	104

Wykaz skrótów

bpm- liczba oddechów na minutę (ang. breath per minute)

CH₄ - metan

CO₂ – dwutlenek węgla

CRI – wlew ciągły dożylny (ang. constant rate infusion)

ET-ISO – końcowo wydechowe stężenie izofluranu

GABA - kwas gamma-aminomasłowy

HCFC - chlorowcowane fluorowęglowodory

HFC - wodorofluorowęglowodory

MAC – minimalne stężenie pęcherzykowe gazu

MAC-ISO – wartość MAC izofluranu

N₂O - podtlenek azotu

NMDA - N-metylo-D-asparaginian

O₃ - ozon

OUN – Ośrodkowy Układ Nerwowy

P – propofol

PFC - perfluorowęglowodory

ppm – liczba części na milion (ang. parts per milion)

TIVA – całkowite znieczulenie dożylnie (ang. Total Intravenous Anesthesia)

TTA – przesunięcie guzowatości kości piszczelowej (ang. Tibial Tuberosity Advancement)

TZ – tyletamina i zolazepam

WAG – odpadowe gazy anestetyczne (ang. Waste Anesthetic Gases)

WHO – Światowa Organizacja Zdrowia

1. Wprowadzenie

Szeroko stosowane anestetyki wziewne, takie jak izofluran, sewofluran czy desfluran, są gazami cieplarnianymi, zubożającymi warstwę ozonową. Podczas zabiegu operacyjnego ulegają one jedynie minimalnemu metabolizmowi w organizmie i w ponad 95% wydalone są w niezmienionej postaci do atmosfery na sali operacyjnej, a następnie poza nią jako odpadowe gazy anestetyczne (ang. Waste Anaesthetic Gases - WAG). Biorąc pod uwagę badania światowych wskaźników chirurgicznych z 2019 r., które oszacowały, że w 2015 r. na całym świecie przeprowadzono 266 milionów operacji, przy medianie wynoszącej 4171 zabiegów na 100 000 osób, okazuje się, że zapotrzebowanie na gazy anestetyczne jest ogromne¹. Brak odpowiedniej wentylacji, systemów wychwytyjących i regulujących stężenie gazów inhalacyjnych w powietrzu mogą skutkować nagromadzeniem WAG, a w konsekwencji wywołać skutki uboczne u osób pracujących w ośrodkach medycznych^{2,3}. Od 2030 r. zgodnie z międzynarodowymi traktatami emisja gazów znieczulających do atmosfery będzie zabroniona⁴.

Środowisko naukowe oraz autorytety medycyny próbują projektować bezpieczne protokoły anestezyjologiczne z alternatywnymi metodami znieczulenia. Jedną z takich alternatyw jest całkowite znieczulenie dożylnie (TIVA)⁵⁻⁸. Protokoły oparte na zasadach tego znieczulenia okazują się bezpieczniejsze dla personelu medycznego oraz środowiska⁹.

2. Wpływ gazów anestetycznych na środowisko

W ostatnich latach rośnie świadomość ludzi na temat ochrony środowiska. Informacje z gazet, radia, Internetu i telewizji, a także zmieniający się klimat na świecie wzbudzają w odbiorcy nie tylko chęć zgłębienia tematu, ale również chęć działania. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) w 2021 r. uznała zmiany klimatyczne za największe zagrożenie dla zdrowia^{10,11}. Jednym z głównych problemów jest globalne ocieplenie. Podwyższona temperatura Ziemi może doprowadzić do zmian we wzorcach opadów, podniesienia poziomu mórz i oceanów, szeroko wpłynie na faunę, florę, a nawet na ludzkość¹². Gadani i wsp.¹² stwierdzili, że ludzkość może nie przeżyć XXI wieku, jeśli globalne ocieplenie i inne formy zanieczyszczenia atmosfery będą się utrzymywać w obecnym tempie. Powstaje więc wiele publikacji, których głównym celem jest edukacja i pogłębianie świadomości o ochronie środowiska. Dodatkowo, różne grupy zawodowe starają się przeanalizować swoje przyzwyczajenia i styl pracy, aby ograniczyć emisję szkodliwych czynników środowiskowych. Ma to na celu umożliwienie wprowadzenia wielotorowego działania w różnych dziedzinach życia.

Globalne ocieplenie jest związane z emisją gazów cieplarnianych, takich jak: para wodna, dwutlenek węgla (CO₂), metan (CH₄), podtlenek azotu (N₂O), chlorowcowane fluorowęglowodory (HCFC), ozon (O₃), perfluorowęglowodory (PFC) i wodorofluorowęglowodory (HFC)¹²⁻¹⁵. Wśród nich znajdują się również gazy znieczulające szeroko stosowane w medycynie człowieka, medycynie weterynaryjnej, laboratoriach i ośrodkach badawczych. Zaangażowanie tych instytucji w pogłębianie globalnego ocieplenia było w dużej mierze ignorowane lub usprawiedliwiane koniecznością wyższą¹⁶. Warto nadmienić, że wpływ gazów znieczulających na klimat odpowiada około jednej trzeciej całkowitego wpływu użytkowania sieci elektroenergetycznych i ciepłowniczych¹². Negatywny

wpływ wziętych gazów anestetycznych emitowanych przez pojedyncze gabinety może wydawać się niewielki w porównaniu z innymi czynnikami zanieczyszczającymi środowisko naturalne. Okazuje się jednak, że znaczenie to jest ogromne, jeśli weźmiemy pod uwagę liczbę sal operacyjnych na całym świecie. Emisja gazów cieplarnianych przez sale operacyjne szpitali uniwersyteckich w USA, Kanadzie i Wielkiej Brytanii szacuje się na 9,7 miliona ton CO₂ rocznie, co odpowiada śladowi węglowemu emitowanemu przez 2 miliony samochodów osobowych¹⁷.

Środowisko medyczne nie chce ignorować tych danych zarówno dla dobra obecnych, jak i przyszłych pacjentów. Amerykańskie Towarzystwo Anestezjologów (The American Society of Anesthesiologists -ASA) opublikowało obszerny dokument na temat tego, co anestezjolodzy mogą zrobić, aby „zazielenić” sale operacyjne¹⁸. Sugestie dotyczące zmniejszenia śladu węglowego obejmowały użycie między innymi: znieczulenia typu low-flow, stosowanie znieczulenia regionalnego lub całkowitego znieczulenia dożylnego (TIVA – Total Intravenous Anaesthesia), tam, gdzie jest to możliwe, jak również ograniczenie stosowania gazów anestetycznych¹⁹. Dodatkowo, Andersen i wsp. stwierdzili w swojej pracy, że dbanie o unikanie nadmiernego stosowania gazów znieczulających ma podwójną korzyść w postaci obniżenia kosztów opieki zdrowotnej i ochrony środowiska. W lecznicach weterynaryjnych szeroko stosowane są gazy inhalacyjne, jednak nie wykorzystuje się techniki typu low-flow, ze względu na konieczność posiadania drogiego sprzętu monitorującego²⁰.

Figueiredo i wsp.²¹ przeanalizowali poziom zanieczyszczenia weterynaryjnych sal operacyjnych izofluranem. Badania wykazały, że anestetyczne zanieczyszczenie powietrza po 5 minutach stosowania anestezji wziętej już nieznacznie przekraczały wartość referencyjną (2 ppm), po 30 minutach wzrastały 4-krotnie, a po 120 minutach wartości te przekraczały 7-12-

krotnie wartość referencyjną. Limity zalecane przez Narodowy Instytut Bezpieczeństwa i Higieny Pracy (ang. National Institute for Occupational Safety & Health) zostały zatem przekroczone już w pierwszych kilku minutach zabiegu²². W związku z brakiem zaleceń co do limitów ekspozycji lekarzy na środki anestetyczne ani wytycznych dotyczących instalacji systemów oczyszczania powietrza z sal operacyjnych, stosowanie TIVA staje się coraz bardziej popularne, wymagające jednocześnie ciągłego ulepszania.

Z wyżej wymienionych powodów w medycynie weterynaryjnej istnieje potrzeba opracowania nowych, "zielonych" protokołów anestetycznych stanowiących alternatywę dla narkozy wziewnej. Naukowcy opracowują nowe leki lub starają się szerzej wykorzystać te, które są już znane. Tyletamina i zolazepam to stosunkowo nowe, lecz znane połączenie leków. Do tej pory jednak nie zostało opisane ich wykorzystanie w celu podtrzymania znieczulenia ogólnego w ciągłym wlewie dożylnym jako jedyne anestetyku.

3. Tyletamina i zolazepam.

Tyletamina jest antagonistą receptora N-metylo-D-asparagianu (NMDA), arylocykloheksyloaminą, chemicznie i farmakologicznie podobną do fencyklidyny i ketaminy²³⁻²⁵. Wywołuje ona znieczulenie dysocjacyjne poprzez "funkcjonalną dezorganizację" wzgórzowo-korową mózgu z nasiloną funkcją części układu limbicznego, w tym hipokampu^{24,26,27}. Tyletamina stosowana samodzielnie wywołuje głęboką, lecz wybiórczą analgezję i stan kataleptyczny. Zachowane są odruchy gardłowo-krtaniowe, a oczy zwierzęcia pozostają otwarte, z zauważalnym powolnym oczopląsem²⁸.

Zolazepam natomiast to benzodiazepina, pochodna pirazolodiazepinonu, wzmacniająca funkcje receptora kwasu gamma-aminomasłowego (GABA) w ośrodkowym układzie nerwowym²⁹. Lek ten jest stosowany jedynie w połączeniu z tyletaminą wywołując szybkie uspokojenie, zmniejszenie hipertoniczności mięśni i drgawek bez efektu przeciwbólowego³⁰⁻³².

Połączenie obu leków w stosunku 1:1 jest stosowane w medycynie weterynaryjnej od wielu lat, a początkowo zostało zatwierdzone do stosowania w Stanach Zjednoczonych Ameryki jako środek unieruchamiający i znieczulający u psów i kotów³³. Tyletamina-zolazepam dostępne są w postaci liofilizowanego proszku i rozpuszczalnika do sporządzenia roztworu do wstrzykiwań, w celu uzyskania stężenia 50 mg/ml tyletaminy i 50 mg/ml zolazepamu (całkowita dawka 100 mg/ml) lub w połowie mniejszym stężeniu dla uzyskania całkowitej dawki 50 mg/ml. Mieszanka tych leków zapewnia szeroki margines bezpieczeństwa i posiada kilka zalet farmakologicznych: szybki czas indukcji, doskonałą miorelaksację i płynną rekonwalescencję³². Natomiast do wad tego połączenia leków możemy zaliczyć: zmienny poziom analgezji, długi okres rekonwalescencji, niemożność oceny głębokości znieczulenia oraz brak antagonisty do odwrócenia ich działania³². Kombinacja tyletaminy i zolazepamu była

i jest szeroko stosowana zarówno samodzielnie w formie pojedynczej iniekcji, jak i w połączeniu z innymi lekami znieczulającymi nie tylko u psów i kotów, ale także u zwierząt laboratoryjnych i dzikich^{30,31,34-41}.

4. Wpływ kombinacji tyletamina-zolazepam na organizm

4.1. Wpływ na układ krążeniowo-oddechowy

Efekt działania tyletaminy i zolazepamu na układ krążeniowo-oddechowy zależy od stosowanej dawki i drogi podania. Po podaniu domięśniowym w dawce 10-20 mg/kg m.c. zaobserwowano depresję układu sercowo-naczyniowego z częstoskurczem zatokowym oraz zmniejszeniem objętości wyrzutowej przy stabilnej pojemności minutowej serca⁴². Natomiast po podaniu dożylnym (6,6- 19,8 mg/kg m.c.) odnotowano istotnie zwiększoną częstość rytmu serca oraz zdecydowanie wyższy rzut serca, podczas gdy wartość ciśnienia tętniczego początkowa zmniejszyła się, by następnie przekroczyć wartość początkową^{43,44}. Według autorów utrzymujący się i zwiększony rzut serca był bezpośrednim wynikiem działania tyletaminy i zolazepamu na współczulny układ nerwowy^{43,44}, a zmniejszenie kurczliwości mięśnia sercowego i oporu naczyniowego przypisano albo bezpośredniemu działaniu leku, zmianom w napięciu naczynioruchowym lub wpływowi izofluranu⁴⁵. Przy dawkach rzędu 2-4 mg/kg m.c. bez premedykacji u psów wykazano normokapnię i graniczną hipoksemię bez oznak sinicy przy bezdechu utrzymującym się poniżej 1 minuty⁴⁶. Natomiast depresja oddechowa, sinica oraz hipoksemia zaobserwowane zostały dopiero przy dawce dożylniej 19,8 mg/kg m.c. u psów⁴⁴. Hellyer i wsp.⁴³ wykazali, że u kotów znieczulonych tyletaminą-zolazepamem może pojawić się kwasica oddechowa, a co ciekawe, nie odnotowali tego objawu podczas badań u psów⁴⁴. Okazuje się więc, że minimalna zalecana przez producenta dawka dożylna tyletaminy-zolazepamu do indukcji znieczulenia powoduje istotną klinicznie hipoksemię⁴⁷. Dodatkowo, hipoksemia okazała się silniejsza po podaniu dożylnym tyletaminy-zolazepamu w porównaniu do podania domięśniowego⁴⁷. Natomiast hiperkapnia, rozwijająca się w ciągu 5-10 minut od podania mieszanki leków niezależnie od dawki, nie ma istotnego wpływu klinicznego, jak również nie wpływa na równowagę kwasowo-zasadową^{42,47}. Savvas i

wsp.⁴⁷ dowiedli w swoim badaniu, że tyletamina-zolazepam wyraźnie, chociaż przejściowo obniża ciśnienie krwi tętniczej, co ma istotne znaczenie dla pacjentów z chorobami serca lub płuc, dlatego też sugerują stosowanie wzbogaconej o tlen mieszanki gazów przynajmniej w ciągu pierwszych 10 minut po indukcji.

W dostępnej literaturze istnieje wiele publikacji o wykorzystaniu tyletaminy z zolazepamem w różnych kombinacjach i dawkach, nie tylko u psów i kotów. Do tej pory nie zostało jednak opisane wykorzystanie ich w najniższej zalecanej dawce w połączeniu z premedykacją medetomidyną i butorfanolem, również w niskich dawkach, oraz zastosowanie ich we wlewie ciągłym dożylnym, jako jedyny anestetyk podtrzymujący znieczulenie ogólne.

4.2. Wpływ na wybudzenie.

Farmakokinetyka tyletaminy i zolazepamu wpływa na jakość wybudzenia pacjenta. Redystrybucja oraz metabolizm tej mieszaniny leków różni się pomiędzy gatunkami zwierząt. U psów okres półtrwania tyletaminy wynosi 1,2 godziny, a zolazepamu 4,5 godziny, podczas gdy u kotów czas ten wynosi odpowiednio 2-4 godzin i 4,5 godziny³³. Niemniej jednak Hampton i wsp.⁴⁸ określają powrót do świadomości pacjentów po podaniu tyletaminy-zolazepamu jako gorszy względem propofolu, czy alfaksalonu u psów, głównie ze względu na pojawienie się ruchów wiosłowych, wokalizacji oraz podekscytowania. U kotów natomiast te niepożądane objawy wydają się być mniej nasilone⁴⁹.

Znaczna poprawa jakości powrotu do świadomości u psów po zastosowaniu tyletaminy i zolazepamu została zaobserwowana po użyciu do podtrzymania znieczulenia gazów anestetycznych, takich jak izofluran i halotan⁵⁰. Warto jednak podkreślić, że wybudzenie

pacjentów w głównej mierze zależy od dawki tyletaminy i zolazepamu, a także drogi podania⁴⁸. Van Foreest⁵¹ sugeruje, że użycie mniejszej dawki tej mieszanki leków przy znieczuleniach psów do zabiegów stomatologicznych spowodował płynniejszy i szybszy ich powrót do świadomości.

5. Indukcja i podtrzymanie znieczulenia.

Indukcja jest to wprowadzenie pacjenta w stan znieczulenia ogólnego. Głównym celem tego etapu jest szybkie wprowadzenie pacjenta w hipnotyczny sen oraz kontrola drożności dróg oddechowych poprzez intubację. Indukcja przeprowadzana jest najefektywniej drogą dożylną, jednak możliwa jest również domięśniowa czy wziewna aplikacja anestetyków⁵². Podaż dożylna pozwala na odpowiednie dostosowanie dawki leku do efektu działania, który uzależniony jest od aktualnego stanu pacjenta (stopnia sedacji) oraz synergistycznego działania z innymi lekami. Natomiast podczas indukcji przeprowadzanej w masce wziewnej ilość podawanej mieszaniny gazu nie jest w pełni kontrolowana i może powodować stres u pacjenta, a w konsekwencji opóźnienie czasu intubacji. Dodatkowo, wzrasta poziom zanieczyszczenia gazami inhalacyjnymi zarówno w obrębie sali operacyjnej, jak i poza nią⁵³. Należy jednak wziąć pod uwagę tę technikę indukcji znieczulenia ogólnego u pacjentów, u których alternatywne metody nie będą odpowiednie⁵³.

Do indukcji znieczulenia ogólnego drogą dożylną stosowane są od wielu dekad propofol oraz ketamina, a w ostatnich latach również tyletamina z zolazepamem oraz, najnowszy spośród nich na polskim rynku, alfaksalon. Najczęściej stosowany jest popularny propofol⁵⁴. Zachęcająca jest szczególnie jego dystrybucja w OUN i innych tkankach, która następuje szybko powodując utratę przytomności w czasie krótszym niż jedna minuta⁵⁵. Mniej popularnym lekiem jest tyletamina-zolazepam, które oprócz właściwości hipnotycznych i miorelaksacyjnych, działają również analgetycznie, co daje szersze możliwości terapeutyczne. Dodatkowo, w odróżnieniu od ketaminy, ta mieszanina leków nie podlega nadzorowi Państwowej Inspekcji Weterynaryjnej.

Kolejnym etapem protokołu anestetycznego jest podtrzymanie znieczulenia ogólnego. Jego celem jest utrzymanie pacjenta w stanie nieświadomości podczas trwania całej procedury i uzyskanie tolerancji chirurgicznej. W medycynie weterynaryjnej główną metodą podtrzymania znieczulenia jest zastosowanie gazów wziewnych⁵⁶. Alternatywą tej techniki jest całkowite znieczulenie dożylne (TIVA). W obu metodach zalecana jest intubacja dotchawicza i podaż tlenu, ze względu na możliwość wystąpienia hipoksemii oraz konieczności użycia wentylacji mechanicznej⁵⁶.

6. TIVA- całkowite znieczulenie dożylnie.

Idealny środek znieczulający powinien powodować sen, utratę świadomości, analgezję oraz miorelaksację, jednak uzyskanie takiego efektu nie jest możliwe dzięki jednej substancji. Z tego względu stosuje się najczęściej kombinację leków, co określane jest mianem „znieczulenia zbilansowanego” (ang. balanced anaesthesia)⁵⁷. Praktycznie rzecz ujmując ten typ znieczulenia można uzyskać podając środki uspokajające oraz przeciwbólowe w postaci wlewów dożylnych ciągłych (ang. Constant Rate Infusion - CRI), co przy zachowaniu zasady multimodalnego znieczulenia pozwala na zastosowanie niższych dawek leków⁵⁸.

Całkowite znieczulenie dożylnie (TIVA) jako alternatywa dla znieczulenia wziewnego w podtrzymaniu znieczulenia zyskuje coraz większe uznanie ze względu na możliwość zastosowania kilku leków działających na zasadzie synergizmu, jak również zmniejszenia negatywnego wpływu na środowisko naturalne⁵⁶. Dostępność dożylnych leków znieczulających o szybkim efekcie działania, redystrybucji oraz klirensie umożliwia zastosowanie ich zarówno do indukcji, jak i podtrzymania znieczulenia ogólnego⁵⁶.

7. Cele i założenia pracy

7.1 Założenia

Protokoły anestezyjologiczne stosowane zarówno w medycynie człowieka, jak i weterynaryjnej stale ewoluują. Główną przyczyną zmian jest powstawanie nowych leków, jak również możliwości wykorzystania znanych już substancji czynnych w różnych kombinacjach. Znieczulenie multimodalne od dłuższego czasu zyskuje na popularności szczególnie ze względu na zwiększenie bezpieczeństwa znieczulenia poprzez zastosowanie niższych dawek leków z jednoczesnym zmniejszeniem skutków niepożądanych. Lekarzom przyświecają szersze perspektywy, z którymi chcą wyjść również poza salę operacyjną. Wielu badaczy zaczęło analizować swój styl pracy przez pryzmat ochrony środowiska. Tak szeroka wizja wpływu działania sektora medycznego wydaje się zaskakująca, jednak z pewnością nie należy jej bagatelizować.

Środki chemiczne stosowane w szpitalach, laboratoriach i mniejszych gabinetach okazują się mieć istotny wpływ na zanieczyszczenie środowiska naturalnego. Autorytety anestezyjologii medycyny człowieka rozpoczęły nawoływanie do „zazieleniania” sal operacyjnych poprzez stosowanie rozsądnych i zbilansowanych protokołów anestezyjologicznych, najlepiej bez użycia gazów wziewnych, które mają istotny wpływ na powiększenie się efektu cieplarnianego na świecie.

W medycynie weterynaryjnej gazy anestetyczne stosowane są w wielu, nawet bardzo małych praktykach lekarskich. Stosowanie odpowiednich filtrów przez ośrodki weterynaryjne do oczyszczania powietrza z sal operacyjnych nie jest kontrolowane przez obowiązujące ustawy i rozporządzenia. Powinno to umocnić w nas przekonanie o słuszności poszukiwania alternatywnych metod znieczulenia.

Założeniem poniższych wieloetapowych doświadczeń jest badanie możliwości zastosowania znieczulenia opierającego się na zasadach TIVA przy użyciu mieszanki leków tyletaminy i zolazepamu bez użycia anestetyku wziewnego. W pierwszym etapie doświadczenia skupiono się na określeniu poziomu minimalnego stężenia pęcherzykowego (ang. Minimum Alveolar Concentration - MAC) izofluranu przy małych inwazyjnych procedurach weterynaryjnych po zastosowaniu indukcji tyletaminą-zolazepamem. W drugim etapie oceniano protokół znieczulenia oparty na zastosowaniu niskiej dawki mieszanki tyletaminy-zolazepamu w indukcji znieczulenia ogólnego oraz jego podtrzymaniu za pomocą tych leków w ciągłym wlewie dożylnym do długotrwałych i inwazyjnych procedur ortopedycznych w obrębie kończyn miednicznych na przykładzie operacyjnego przesunięcia guzowatości kości piszczelowej (ang. Tibial Tuberosity Advancement - TTA). W każdym z tych etapów oceniano jakość indukcji znieczulenia ogólnego, możliwość i czas intubacji, parametry hemodynamiczne i wentylacyjne. Z kolei w trzecim etapie analizowano okres poanestetyczny, w celu określenia pełnego wpływu działania mieszanki tyletaminy-zolazepamu na pacjenta.

7.2. Cele

1. Ocena konieczności stosowania izofluranu przy zastosowaniu indukcji znieczulenia ogólnego mieszanką tyletamina-zolazepam w dawce 5 mg/kg m.c. podczas krótkich i małych inwazyjnych procedur ambulatoryjno-chirurgicznych u psów.
2. Ocena wpływu niskiej dawki (0,5 mg/kg m.c.) mieszanki tyletaminy-zolazepamu na efektywność indukcji znieczulenia ogólnego.

3. Ocena poziomu znieczulenia ogólnego oraz jego wpływ na parametry sercowo-naczyniowe, wentylacyjne oraz temperaturę wewnętrzną ciała po zastosowaniu protokołu TIVA z indukcją i podtrzymaniem znieczulenia niską dawką tyletaminy-zolazepamu.
4. Ocena okresu wybudzeniowego oraz poziomu analgezji podczas wybudzania pacjentów po zastosowanym protokole TIVA z mieszaniną tyletaminy-zolazepamu w ciągłym wlewie dożylnym.
5. Ocena przydatności badanego protokołu TIVA do procedur ortopedycznych w obrębie kończyn miednicznych.
6. Ocena przydatności badanego protokołu TIVA jako alternatywy dla znieczulenia inhalacyjnego, umożliwiającego ograniczenie emisji szkodliwych czynników środowiskowych.

8. Etap I

8.1. Materiały i metody

Poniższa część doświadczenia obejmowała znieczulenie psów z wykorzystaniem protokołu anestezjologicznego opartego na zastosowaniu dożylniej indukcji znieczulenia tyletaminą i zolazepamem w najniższej zalecanej dawce ze zmieniającą się wartością końcowo wydechowego stężenia izofluranu (ET-ISO) ustalonej według metody Up-and-Down Dixona. Podczas znieczulenia pacjenci stymulowani byli bodźcami bólowymi, w celu oceny głębokości znieczulenia.

Całość doświadczenia składająca się z procedur przedanestetycznych, anestetycznych i poanestetycznych przeprowadzana była w Katedrze i Klinice Chirurgii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

Lokalna Komisja Etyczna do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach we Wrocławiu zdecydowała o braku konieczności zgody na przeprowadzenie procedur I etapu doświadczenia (decyzja nr 042/2020).

8.1.1. Zwierzęta

W etapie I doświadczenia wykorzystano 12 psów różnej płci i rasy, o masie ciała $16,5 \pm 11,8$ kg i w wieku $3,3 \pm 1,2$ lat. Każdy pacjent przed zabiegiem poddawany był przedmiotowemu badaniu klinicznemu oraz badaniu krwi (pełne badanie morfologiczne i biochemiczne). Jedynie pacjenci należący do klasy ASA I-II byli kwalifikowani do doświadczenia. Wszystkie zwierzęta były pacjentami Katedry i Kliniki Chirurgii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Właściciele wyrazili

pozwolenie na udział swoich psów w badaniu poprzez podpisanie zgody. Zwierzęta były oddawane właścicielom po wykonaniu całości doświadczenia oraz pełnym wybudzeniu pacjenta.

8.1.2. Procedura anestezjologiczna

Każdy pacjent poddany był 4-6 godzinnej głodówce, a wodę odstawiano na minimum 3 godziny przed zabiegiem. Premedykacja w formie domięśniowej iniekcji medetomidyny i butorfanolu (odpowiednio 0,01 mg/kg m.c., Cepetor 1 mg/ml, CP-Pharma Handelsges mbH Niemcy; 0,1 mg/kg m.c. Butomidol 10 mg/ml, Richter Pharma AG, Austria) podawana była po zakwalifikowaniu pacjenta do zabiegu. 15 minut po premedykacji rozpoczęto 5 minutową preoxygenację, wprowadzano kaniulę (KD-FIX 22G lub 24G) do żyły odpromieniowej (*v. cephalica*) oraz przygotowano pacjenta do zabiegu poprzez wstępne mycie, golenie i dezynfekcję. Następnie psy przenoszono na salę operacyjną, gdzie poddano je płynoterapii (Optilyte, Fresenius Kabi Poland Sp. z o.o. Warszawa) w ilości 10 ml/kg/h. Każdy pacjent układany był w pozycji leżącej na boku na macie grzewczej w celu podtrzymania temperatury ciała. Indukcję znieczulenia ogólnego podawano dożylnie z wykorzystaniem tyletaminy-zolazepamu (Zoletil 50 mg/ml, Virbac, Francja) w dawce 5 mg/kg m.c. Po uzyskaniu efektów indukcji znieczulenia ogólnego pacjent był intubowany rurką dotchawiczą i podłączany do aparatury anestezjologicznej (Mindray Wato-Ex Pro 65 i Mindray BenVision N15, Chiny). Znieczulenie podtrzymywano gazem znieczulającym – izofluranem (Iso-vet, Chanelle Pharma, Irlandia) podawanym w czystym tlenie. Przez cały czas trwania doświadczenia (od indukcji do czasu stymulacji pacjenta) mierzono i rejestrowano parametry hemodynamiczne i wentylacyjne w odstępach 2-minutowych (częstotliwość rytmu serca (HR), częstość oddechów (RR), nieinwazyjne ciśnienie krwi (BP), saturację (SpO₂), temperaturę (T), CO₂ końcowo-wydechowy (ET-CO₂), izofluran końcowo-wydechowy (ET-ISO)).

8.1.3. Metoda Up-and-Down Dixona

Metoda Up-and-Down Dixona służy do określenia stężenia anestetyku, pod wpływem którego pacjent nie reaguje na bodziec bólowy podczas stymulacji. W przypadku gazów wziewnych określany jest MAC, obliczany na podstawie wartości końcowo-wydechowego izofluranu. W tym modelu doświadczalnym, zwanym również schematem tzw. „klatki schodowej” (ang. „staircase”), stężenie anestetyku wziewnego dla kolejnego pacjenta zależy od odpowiedzi poprzedniego pacjenta na bodziec bólowy⁵⁹. Metoda ta pozwala na obserwację wpływu bodźca na pacjenta w jak najmniejszej grupie badanej, co zgodne jest z zachowaniem zasady 3R (zastąpienie, zredukowanie, udoskonalenie, ang. replacement, reduction, refinement). Przestrzeganie tej zasady gwarantuje stałe ograniczanie liczebności osobników biorących udział w doświadczeniu oraz skłania naukowców do poszukiwania odpowiednich metod badawczych. Dodatkowo, metoda Dixona pozwala na wiarygodną i prawidłową weryfikację wartości progowej z jednoczesną kumulacją wyników doświadczenia w pobliżu tej wartości. Zgodnie z zasadami tejże procedury poszukuje się więc takiego stężenia leku, który da oczekiwany efekt u pacjenta.

Zgodnie z metodą Up-and-Down Dixona pierwszym krokiem jest wybór testowanych dawek anestetyku z równymi odstępami między poszczególnymi wartościami. W poniższym doświadczeniu wartość początkowa MAC izofluranu (MAC-ISO) wynosiła 0,7, a odstęp między kolejnymi pacjentami- 0,1 vol. % zgodnie z założeniami opisywanej metody⁶⁰. Metoda Up-and-Down Dixona jest szeroko stosowana do oznaczania MAC gazów wziewnych nie tylko w medycynie weterynaryjnej, ale również w medycynie człowieka⁶¹⁻⁶³.

Kolejnym krokiem opisywanej metody jest przeprowadzenie serii badań zgodnie z zasadą zwiększania stężenia anestetyku po pozytywnej reakcji na bodziec bólowy i jego zmniejszania przy braku odpowiedzi⁶⁰. Zgodnie z tą metodą odpowiedź na stymulację bólową oceniana jest tylko raz u danego pacjenta. Pozytywna lub negatywna odpowiedź jest następnie wykorzystywana do określenia wartości MAC anestetyku wziewnego dla kolejnego pacjenta⁶¹. W niniejszym badaniu stymulacja obejmowała: ucisk opuszki palca, paliczka, okolicy pachwiny i zaciskanie kleszczyków Backhaus na skórze⁶⁴⁻⁶⁶.

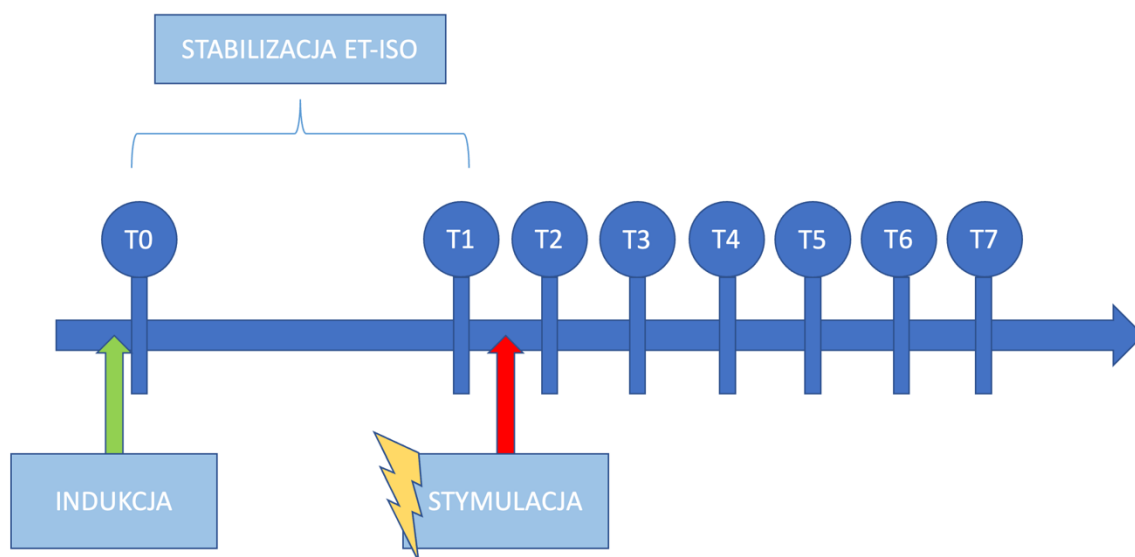
W metodzie Up-and-Down Dixona poszukujemy „skrzyżowań”, czyli „crossover”, które są definiowane jako przeciwna reakcja na stymulację u dwóch kolejnych pacjentów (pozytywna, a następnie negatywna lub odwrotnie). Aby zwiększyć wiarygodność wyników, trzykrotnie sprawdzono odpowiedź na stymulację przy poziomie wartości MAC izofluranu równym 0,0.

8.1.4. Wyznaczanie MAC-ISO

U pierwszego pacjenta końcowo-wydechowe stężenie izofluranu (ET-ISO) ustalono na poziomie 0,7% vol.^{67,68}. Stabilizacja znieczulenia ogólnego trwała u każdego pacjenta do 15 minut. Po czasie ustalenia odpowiedniego poziomu ET-ISO pacjent poddawany był stymulacji. Jeśli odpowiedź była negatywna, ET-ISO u następnego pacjenta zmniejszano o 0,1 vol. %; jeśli odpowiedź była pozytywna, u kolejnego psa ET-ISO zwiększano o 0,1 vol. %. Zmiany w reakcji na bodziec bólowy pomiędzy dwoma kolejnymi psami — pozytywna odpowiedź, a następnie negatywna odpowiedź u kolejnego pacjenta lub odwrotnie — zostały zdefiniowane jako „skrzyżowania”⁶².

8.1.5. Schemat doświadczenia

Czas procedury podzielono na odpowiednie punkty czasowe (T0-T7), w których mierzono parametry sercowo-naczyniowe i oddechowe. T0 był pierwszym pomiarem w/w parametrów wykonanym bezpośrednio po indukcji znieczulenia; T1 to średnia parametrów z 14 i 16 minuty po indukcji znieczulenia, gdy ET-ISO było już ustalone na odpowiednim poziomie i wykonano pierwszą stymulację; T2-T7 to wartości mierzone co 2 minuty, co oznacza, że ostatni pomiar (T7) został zmierzony w 10 minucie po stymulacji (Fig.1).



Ryc. 1 Schemat doświadczenia

Parownik z izofluranem ustawiano na wartości 0,7-0,0% vol. w zależności od pacjenta, a ET-ISO kalibrowano przez 15 minut do odpowiedniego poziomu określonego metodą Up-and-Down Dixona ($0,7-0,0 \pm 0,1$ ET-ISO)⁵⁹. Następnie określano poziom znieczulenia wykonując stymulację. Pozytywną lub negatywną odpowiedź na bodziec bólowy można było ocenić tylko raz u danego pacjenta^{69,70}. W poniższym badaniu bodźcem bólowym był nacisk na opuszkę palca, paliczek, okolice pachwiny i zaciskanie kleszczyków Backhaus na skórze^{61,62,67,71}.

Reakcja na bodziec bólowy była klasyfikowana jako pozytywna, jeśli pacjent odpowiedział ruchem (głowy, tułowia lub kończyn) lub jeśli HR, RR lub BP wzrosły o 20% w porównaniu do parametrów wyjściowych przed stymulacją w T1. Do obliczenia wartości MAC-ISO wykorzystano końcowo-wydechowe stężenie izofluranu (ET-ISO) badane w trzech skrzyżowaniach, w których ten sam pacjent nie mógł pojawić się dwukrotnie^{67,68}. Stężenie końcowo wydechowe izofluranu, przy którym odpowiedź była dodatnia lub ujemna, rejestrowano jako wartość MAC dla danego pacjenta⁶⁷.

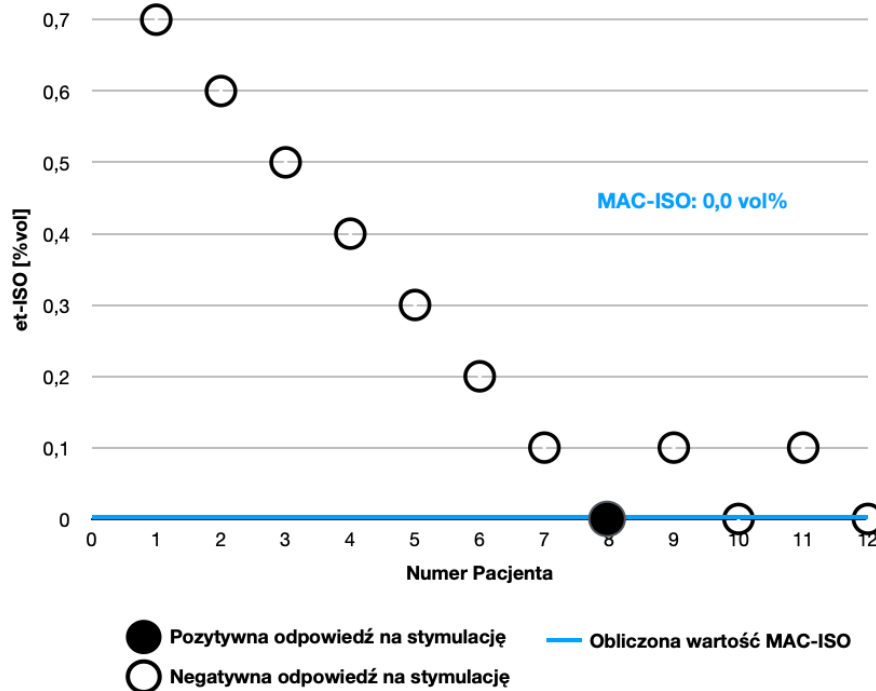
8.1.6. Analiza statystyczna etapu I

Analiza statystyczna obejmowała statystyki opisowe i testowanie normalności za pomocą Kolmogorowa–Smirnowa. W celu porównania parametrów życiowych w różnych punktach czasowych zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji dla wielokrotnych pomiarów (ANOVA). W przypadku odrzucenia hipotezy zerowej wykonano testy *post-hoc* metodą Tukeya. Analizę statystyczną prowadzono wykorzystując pakiet STATISTICA (data analysis software system), version 13 firmy TIBCO Software Inc. (2017) zaś poziom istotności każdorazowo ustalano na 5%.

8.2. Wyniki etapu I

8.2.1. Wartość MAC-ISO

Podanie tyletaminy-zolazepamu w indukcji znieczulenia ogólnego w dawce 5 mg/kg m.c. spowodowało zmniejszenie wartości MAC-ISO do wartości 0,0 % obj. (Ryc. 2).



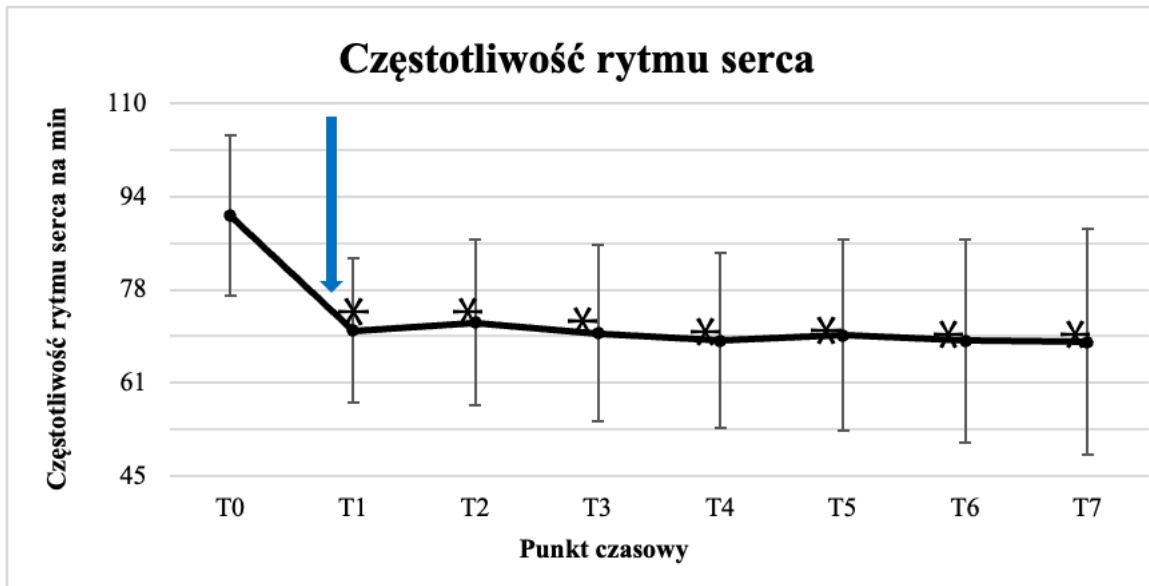
Ryc. 2 Wykres przedstawiający wyniki I etapu doświadczenia

Zgodnie z zasadą Up-and-down Dixona obniżono ET-ISO u siedmiu pierwszych pacjentów w wyniku negatywnej odpowiedzi na stymulację. Ósmy pacjent, przy ET-ISO wynoszącym 0, wykazał pozytywną odpowiedź na stymulację bólową, tj. wzrost HR powyżej 20% w porównaniu do parametrów wyjściowych. U kolejnego pacjenta zastosowano więc, zgodnie z metodą Dixona, wyższy o 0,1 vol.% ET-ISO. Odnotowano negatywną odpowiedź na stymulację, co spowodowało obniżenie ET-ISO u kolejnego pacjenta. W związku z brakiem pozytywnej odpowiedzi na bodziec, wykonano kolejne „crossover”, w celu potwierdzenia otrzymanych wyników.

8.2.2. Częstotliwość rytmu serca

Częstotliwość rytmu serca na minutę w trakcie trwania badania różniła się między T0 a kolejnymi punktami. Wyjściowo parametr ten u wszystkich pacjentów był wyższy niż w

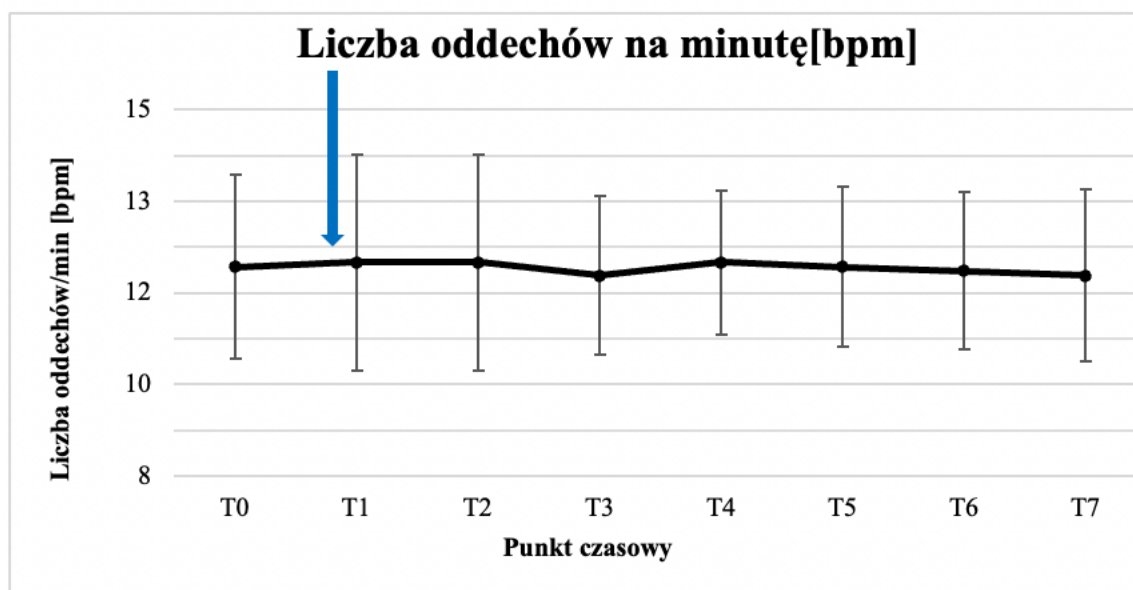
kolejnych punktach czasowych, w których z kolei utrzymywał się na podobnym poziomie, bez istotnych wahań. Analiza statystyczna potwierdza to wykazując różnice w wartości HR między T0, a wszystkimi kolejnymi punktami czasowymi (Ryc. 3). Nie zaobserwowano tachykardii ani bradykardii. Pacjenci przez cały okres badania byli stabilni.



Ryc. 3 Wykres przedstawia średnie wartości pomiaru częstotliwości rytmu serca na minutę u wszystkich pacjentów z odchyleniem standardowym dla danego punktu czasowego. Różnice istotne statystycznie pomiędzy T0 a odpowiadającym mu punktem czasowym oznaczono zgodnie z następującymi regułami: * dla $p \in (0,0001; 0,00001)$; Niebieska strzałka oznacza moment, w którym wykonano stymulację bólową.

8.2.3. Liczba oddechów na minutę

Przez cały okres badania pacjenci zachowali oddech spontaniczny. Żaden z pacjentów nie wymagał mechanicznej wentylacji. Od początku doświadczenia do jego zakończenia ilość oddechów utrzymywała się na stałym poziomie. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w pomiarach częstości oddechów między badanymi punktami czasowymi ($p = 0,986$) (Ryc. 4).

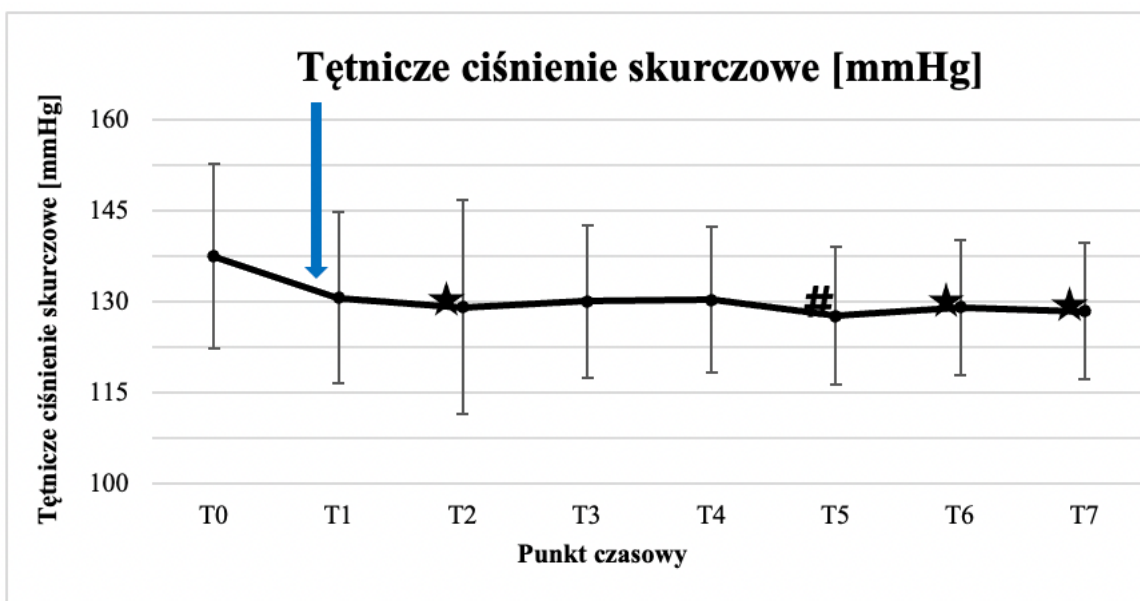


Ryc. 4 Wykres przedstawia średnie wartości pomiaru liczby oddechów na minutę u wszystkich pacjentów z odchyleniem standardowym dla danego punktu czasowego. Niebieska strzałka oznacza moment, w którym rozpoczęto stymulację.

8.2.4. Ciśnienie tętnicze krwi

8.2.4.1. Tętnicze ciśnienie skurczowe krwi

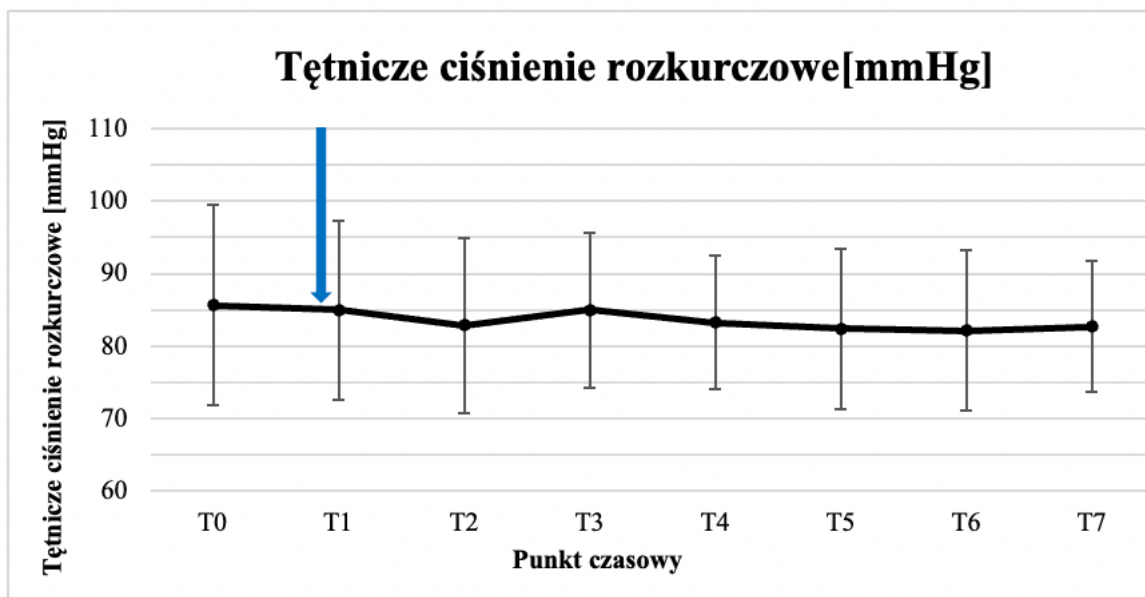
Tętnicze ciśnienie skurczowe krwi obniżało się od punktu czasowego T0 do T2 ($P < 0,05$), po czym pozostało na stały poziomie do punktu czasowego T4 (Ryc. 5). Następnie odnotowano nieznaczny spadek skurczowego ciśnienia tętniczego krwi w punkcie czasowym T5. Różnice istotne statystycznie zostały odnotowane między T0 a kolejnymi punktami czasowymi od T5 do T7 (Ryc. 5).



Ryc. 5 Wykres przedstawia średnie wartości pomiaru tętniczego ciśnienia skurczowego u wszystkich pacjentów z odchyleniem standardowym dla danego punktu czasowego. Różnice istotne statystycznie pomiędzy T0 a odpowiadającym mu punktem czasowym oznaczono zgodnie z następującymi regułami: ★ dla $p \in (0,05;0,01>$; # dla $p \in (0,01;0,001)$; Niebieska strzałka oznacza moment, w którym rozpoczęto stymulację.

8.2.4.2. Tętnicze ciśnienie rozkurczowe krwi

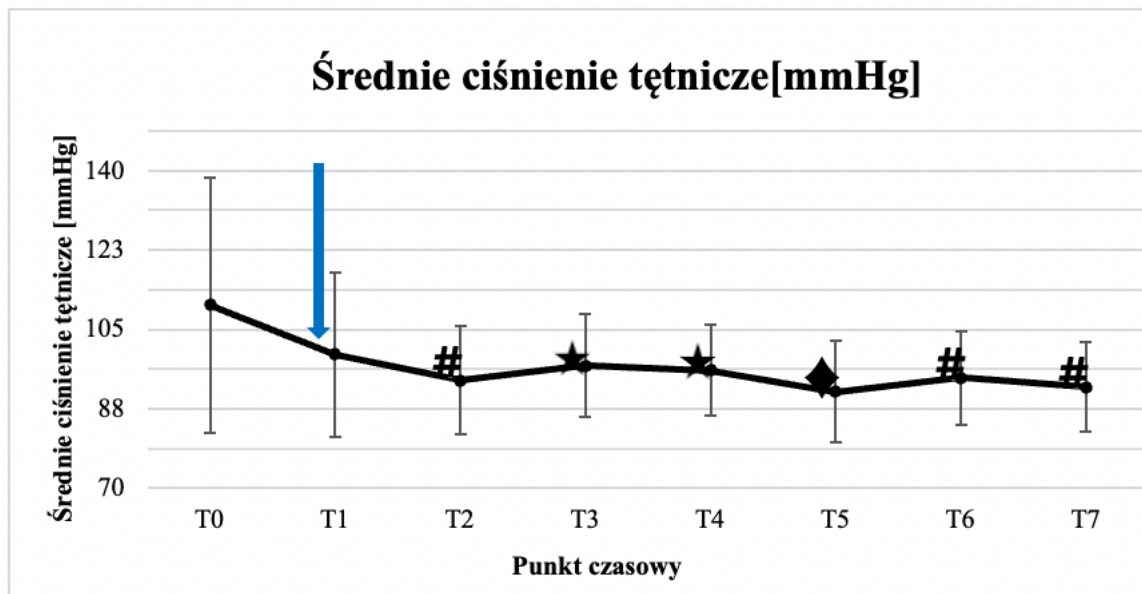
Tętnicze ciśnienie rozkurczowe krwi utrzymywało się na stałym poziomie przez cały okres badań. Nie wykazano zatem różnicy istotnej statystycznej dla ciśnienia rozkurczowego krwi ($p=0,46$) (Ryc. 6).



Ryc. 6 Wykres przedstawia średnie wartości pomiaru tętniczego ciśnienia rozkurczowego u wszystkich pacjentów z odchyleniem standardowym dla danego punktu czasowego. Brak różnice istotnych statystycznie pomiędzy T0 a odpowiadającymi mu punktami czasowymi. Niebieska strzałka oznacza moment, w którym rozpoczęto stymulację.

8.2.4.3. Średnie ciśnienie tętnicze krwi

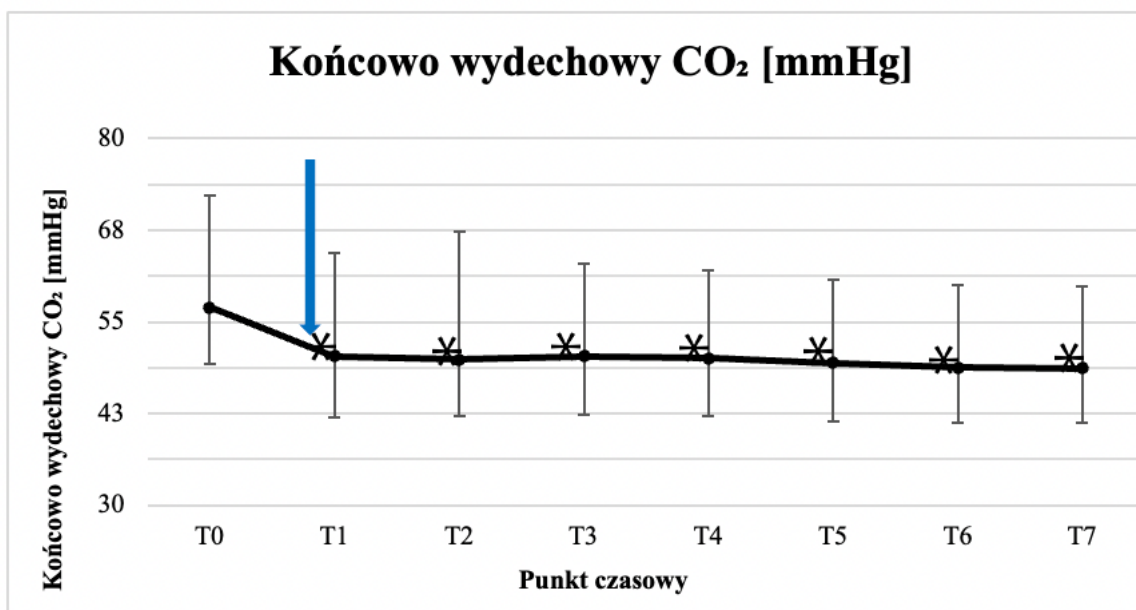
Średnie ciśnienie krwi znacznie spadło w ciągu kolejnych 3 punktów czasowych, utrzymując swoją wartość do T4. Wystąpił niewielki spadek średniego ciśnienia krwi w T5, który następnie utrzymywał się do końca badania (Ryc. 7). Zmiany te zostały potwierdzone analizą statystyczną, która wykazała różnice istotne statystycznie między T0 a kolejnymi punktami czasowy rozpoczynając od T2 aż do T7.



Ryc. 7 Wykres przedstawia średnie wartości pomiaru średniego ciśnienia tętniczego u wszystkich pacjentów z odchyleniem standardowym dla danego punktu czasowego. Różnice istotne statystycznie pomiędzy T0 a odpowiadającym mu punktem czasowym oznaczono zgodnie z następującymi regułami: ★ dla $p \in (0,05;0,01>$; # dla $p \in (0,01;0,001>$; ◆ dla $p \in (0,001;0,0001)$. Niebieska strzałka oznacza moment, w którym rozpoczęto stymulację.

8.2.4.4. Stężenie dwutlenku węgla w wydychanym powietrzu

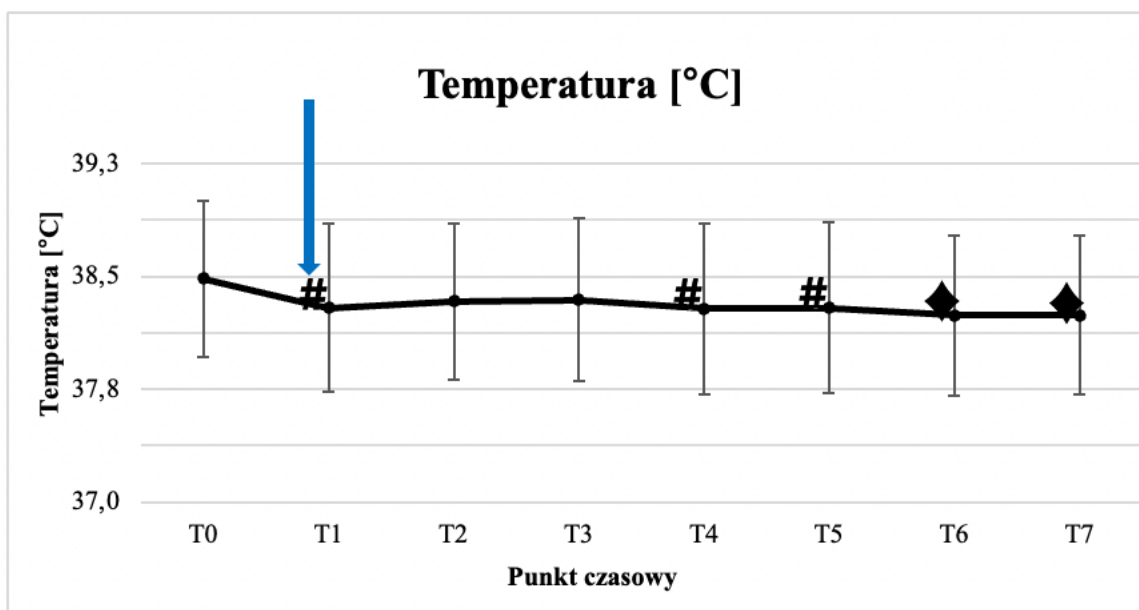
Stężenie dwutlenku węgla w wydychanym powietrzu mierzone było w strumieniu bocznym u każdego pacjenta. Analiza statystyczna wykazała statystycznie istotne różnice w poszczególnych punktach czasowych ($p < 0,000001$). Końcowo wydechowy dwutlenek węgla obniżył się względem T0, a następnie utrzymywał na podobnym poziomie przez czas badania (Ryc. 8).



Ryc. 8 Wykres przedstawia średnie wartości pomiaru końcowo wydechowego CO₂ u wszystkich pacjentów z odchyleniem standardowym dla danego punktu czasowego. Różnice istotne statystycznie pomiędzy T0 a odpowiadającym mu punktem czasowym oznaczono zgodnie z następującymi regułami: * dla $p \in (0,0001;0,00001)$; Niebieska strzałka oznacza moment, w którym rozpoczęto stymulację.

8.2.4.5. Temperatura wewnętrzna ciała

Podczas pomiarów temperatury wewnętrznej ciała u badanych pacjentów stwierdzono różnice istotne statystyczne ($p=0,00011$). Temperatura spadała między punktami czasowymi T0 a T1. Utrzymywała się na podobnym poziomie do punktu czasowego T4, a następnie stopniowo spadała do końca procedury (Ryc. 9). Najwyższą średnią temperaturę wewnętrzną ciała odnotowano w punkcie czasowym T0 ($38,5 \pm 0,5$ °C), a najniższą w ostatnim punkcie czasowym T7 ($38,2 \pm 0,5$ °C).



Ryc. 9 Wykres przedstawia średnie wartości pomiaru temperatury u wszystkich pacjentów z odchyleniem standardowym dla danego punktu czasowego. Różnice istotne statystycznie pomiędzy T0 a odpowiadającym mu punktem czasowym oznaczono zgodnie z następującymi regułami: # dla $p \in (0,01;0,001>)$; ♦ dla $p \in (0,001;0,0001)$; Niebieska strzałka oznacza moment, w którym rozpoczęto stymulację.

9. Etap II

9.1. Materiały i metody

Poniższa część doświadczenia obejmowała znieczulenie psów z wykorzystaniem protokołu anestezyjologicznego opartego na zasadach TIVA. Indukcja oraz podtrzymanie znieczulenia ogólnego we wlewie ciągłym przeprowadzane były z zastosowaniem tyletaminy i zolazepamu w niskich dawkach. Dodatkowo, wykonywano znieczulenie epiduralne w celu uzyskania efektu analgezji. Pacjenci poddawani byli następnie zabiegowi ortopedycznemu TTA.

Całość doświadczenia składająca się z procedur przedanestetycznych, anestetycznych i poanestetycznych przeprowadzana była w Katedrze i Klinice Chirurgii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

W sprawie przeprowadzenia badań w etapie II zaprezentowanych w rozprawie doktorskiej złożono wnioski do Lokalnej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach we Wrocławiu i na mocy decyzji 067/2021 otrzymano zgodę na przeprowadzenie zaplanowanych procedur na zwierzętach będącymi pacjentami Katedry i Kliniki Chirurgii Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

9.1.1. Zwierzęta

W etapie II doświadczenia wykorzystano 20 psów różnej płci i rasy, o masie ciała $41,3 \pm 10,59$ kg i w wieku $3,4 \pm 1,3$ lat. Każdy pacjent przed zabiegiem poddawany był przedmiotowemu badaniu klinicznemu oraz badaniu krwi (pełne badanie morfologiczne i

biochemiczne). Jedynie pacjenci należący do klasy ASA I-II byli kwalifikowani do doświadczenia. Wszystkie zwierzęta były pacjentami Katedry i Kliniki Chirurgii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Właściciele wyrazili pozwolenie na udział swoich psów w badaniu poprzez podpisanie zgody. Zwierzęta były oddawane właścicielom po wykonaniu całości doświadczenia oraz pełnym wybudzeniu pacjenta.

9.1.2. Dobór grup

Pacjenci zostali podzieleni na 2 grupy po 10 zwierząt: grupa badana TZ (tyletamina-zolazepam) i grupa kontrolna P (propofol). Do poszczególnych grup pacjenci dobierani byli losowo w dniu zabiegu przed wykonaniem badania klinicznego.

9.1.3. Procedura przedanestetyczna

Każdy pacjent poddany był 4-6 godzinnej głodówce, a wodę odstawiano na minimum 3 godziny przed zabiegiem. Premedykacja w formie domięśniowej iniekcji deksmedetomidyny (Dexdomitor 0,5 mg/ml, Orion Pharma) w dawce 500 µg/m² podawana była po zakwalifikowaniu pacjenta do zabiegu. Po uzyskaniu odpowiedniego poziomu sedacji przygotowywano pole operacyjne (golenie, mycie i wstępna dezynfekcja). 15 minut po premedykacji rozpoczęto 5 minutową preoksygenację oraz wprowadzano kaniulę (KD-FIX 22G lub 24G) do żyły odpromieniowej (*v. cephalica*). Następnie psy przenoszono na salę operacyjną, gdzie poddawano je płynoterapii (Optilyte, Fresenius Kabi Poland Sp. z o.o. Warszawa) w dawce 5 ml/kg/h. Wygoloną wcześniej okolicę przemywano płynem antybakteryjnym z chlorheksydyną 4% oraz przeprowadzono dezynfekcję 70% roztworem

alkoholu etylowego. Następnie pokrywano skórę preparatem Skinsept. Każdy pacjent układany był w pozycji leżącej na boku na macie grzewczej w celu podtrzymania temperatury ciała.

9.1.4. Procedura anestezjologiczna śródzabiegowa

9.1.4.1. Grupa TZ

Indukcję znieczulenia ogólnego wykonywano dożylnie z wykorzystaniem tyletaminy-zolazepamu (Zoletil 50 mg/ml, Virbac, Francja) w dawce 0,5 mg/kg m.c. Po uzyskaniu tolerancji pacjent był intubowany rurką dotchawiczą, podłączany do aparatury anestezjologicznej (Mindray Wato-Ex Pro 65 i Mindray BenVision N15, Chiny). Przez cały czas trwania doświadczenia podawano pacjentowi czysty tlen oraz mierzono i rejestrowano parametry hemodynamiczne i wentylacyjne (częstotliwość rytmu serca (HR), częstość oddechów (RR), nieinwazyjne ciśnienie krwi (BP), saturację (SpO₂), temperaturę (T) oraz CO₂ końcowo-wydechowy (ET-CO₂). Znieczulenie ogólne podtrzymywano poprzez wlew ciągły tyletaminy-zolazepamu w dawce 1 mg/kg/h za pomocą pompy strzykawkowej (KWAPISZ DUET 20/50 S/N 15062/2009). Po indukcji znieczulenia oraz podłączeniu wlewu ciągłego wykonywano znieczulenie zewnątrzoponowe przy użyciu lignokainy (Lignocainum Hydrochloricum WZF 2%, Polfa Warszawa S.A.) w dawce 4 mg/kg m.c. Wklucie wykonywano wprowadzając igłę w przestrzeń pomiędzy ostatnim kręgiem lędźwiowym a kością krzyżową (*spatium lumbosacrale*). Poprawne wykonanie znieczulenia miejscowego potwierdzano aspiracją płynu z nasady igły (metoda „zwisającej kropli”, ang. „hanging drop”) oraz relaksacją zwieracza odbytu (tzw. „ziewający odbyt”). Pacjenci zostali podłączeni poprzez układ półzamknięty do aparatu do znieczulenia Mindray Wato-Ex Pro 65. Przez kolejne 10 minut monitorowano parametry życiowe i notowano je w 2 minutowych interwałach. Obliczając średnią z powyższych parametrów utworzono pierwszy punkt czasowy (T1).

Po zakończonym zabiegu chirurgicznym pacjent odłączany był od ciągłego wlewu dożylnego z tyletaminy i zolazepamu, a także od aparatury monitorującej. Zwierzę przewożone było następnie do sali wybudzeniowej w celu przeprowadzenia III etapu doświadczenia.

9.1.4.2. Grupa P

Indukcję znieczulenia ogólnego podawano dożylnie z wykorzystaniem propofolu (Provive, Baxter Holding B.V. Kobaltweg 49, 3542 CE Utrecht Holandia) w dawce 1 mg/kg m.c. Po uzyskaniu tolerancji pacjent był intubowany rurką dotchawiczą, podłączany do aparatury anestezyjologicznej (Mindray Wato-Ex Pro 65 i Mindray BenVision N15, Chiny). Przez cały czas trwania doświadczenia podawano pacjentowi czysty tlen oraz mierzono i rejestrowano parametry hemodynamiczne i wentylacyjne (częstotliwość rytmu serca (HR), częstość oddechów (RR), nieinwazyjne ciśnienie krwi (BP), saturację (SpO₂), temperaturę (T) oraz CO₂ końcowo-wydechowy (ET-CO₂). Znieczulenie ogólne podtrzymywano poprzez wlew ciągły propofolu w dawce 6 mg/kg/h przez pompę strzykawkową przepływową (KWAPISZ DUET 20/50 S/N 15062/2009). Dalsza część procedury przebiegała podobnie jak opisane zostało to wyżej przy grupie TZ.

9.1.4.3. Monitoring śródzabiegowy pacjentów

Pacjenci monitorowani byli przy pomocy kardiomonitora Mindray BenVision N15, dzięki czemu uzyskano:

- elektrokardiografię (poprzez 3- odprowadzeniowe EKG)
- częstość rytmu serca na minutę (HR)
- liczbę oddechów na minutę (RR)
- ciśnienie tętnicze krwi mierzone metodą oscylometryczną (ciśnienie tętnicze krwi skurczowe (SAP), ciśnienie tętnicze krwi rozkurczowe (DAP), średnie ciśnienie tętnicze krwi (MAP))

- saturację krwi (SpO₂) poprzez założenie czujnika na język pacjenta
- końcowe stężenie dwutlenku węgla w wydychanym powietrzu mierzoną w strumieniu bocznym (ET-CO₂)
- temperaturę wewnętrzną ciała mierzoną przy pomocy sondy doprzelykowej.

Pomiary były odnotowywane w odstępach 5 minutowych przez cały okres znieczulenia ogólnego. Dodatkowo, przed rozpoczęciem procedury chirurgicznej, wykonano 5 pomiarów w 2 minutowych interwałach w celu uzyskania średniej wartości poszczególnych parametrów. Wynik ten nazwano pierwszym punktem czasowym (T1).

9.1.6. Analiza statystyczna etapu II

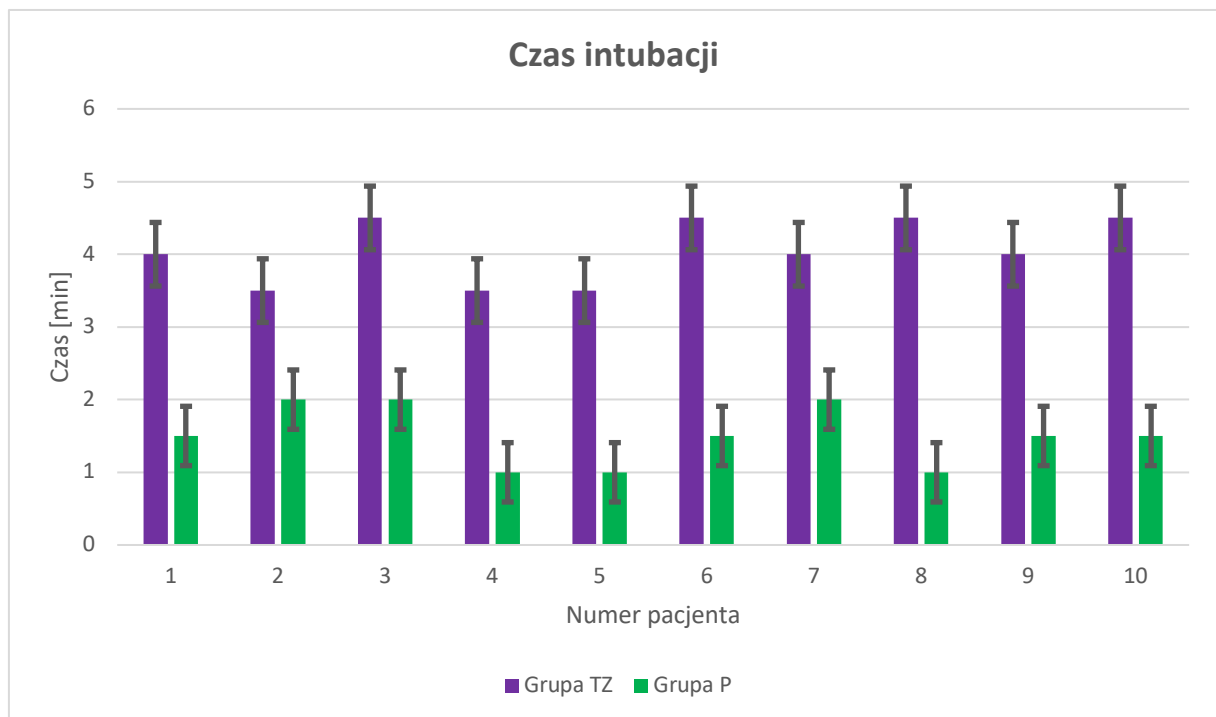
Analiza statystyczna obejmowała statystyki opisowe i testowanie normalności za pomocą Kołmogorowa–Smirnowa. W celu porównania różnic między grupami w zakresie parametrów życiowych w poszczególnych punktach czasowych oraz czasu niezbędnego do indukcji znieczulenia ogólnego zastosowano test t-Studenta dla zmiennych niezależnych. Wpływ czasu na parametry życiowe wewnątrz grup zbadano wykorzystując jednoczynnikową analizę wariancji dla wielokrotnych pomiarów (ANOVA) z testem *post-hoc* Tukeya. Analizę statystyczną prowadzono wykorzystując pakiet STATISTICA (data analysis software system), version 13 firmy TIBCO Software Inc. (2017) zaś poziom istotności każdorazowo ustalano na 5%.

9.2. Wyniki etapu II

9.2.1. Indukcja znieczulenia

Na podstawie zniesienia odruchów: powiekowego, krtaniowego, gardłowego, a także możliwości zaintubowania pacjenta oceniano poziom indukcji znieczulenia ogólnego, który u wszystkich pacjentów w obu grupach osiągnął oczekiwany efekt.

Dla porównania odnotowano czas od momentu podania indukcji znieczulenia ogólnego do bezproblemowej intubacji. W grupie TZ średni czas od indukcji znieczulenia ogólnego do intubacji pacjenta wyniósł $4,05 \pm 0,44$ minuty, podczas gdy czas ten w grupie P wynosił jedynie $1,5 \pm 0,4$ minuty (Ryc. 10). Analiza statystyczna wykazała istotne różnice między grupami ($p < 0,05$).



Ryc. 10 Czas mierzony od podania indukcji znieczulenia ogólnego do bezproblemowej intubacji.

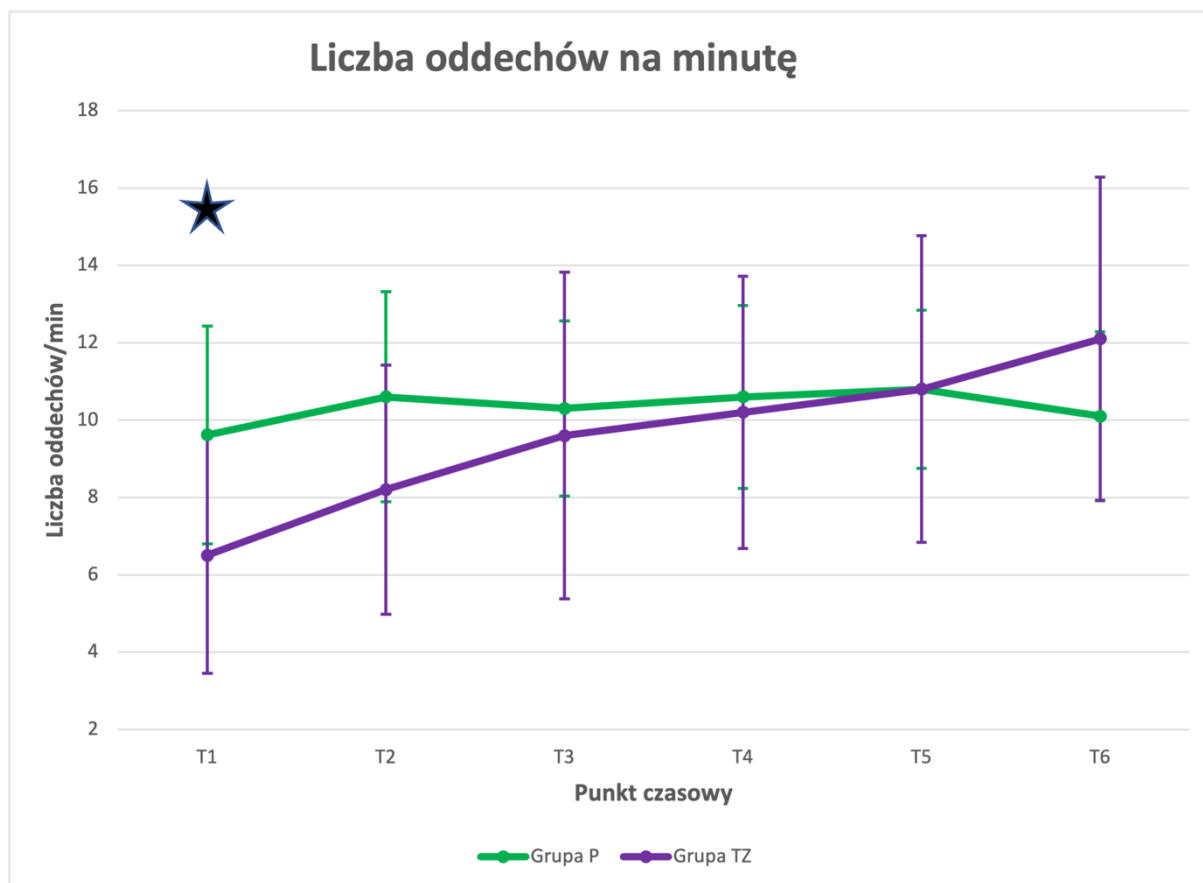
9.2.2. Liczba oddechów

U wszystkich pacjentów, przez cały czas trwania doświadczenia, zachowany był oddech spontaniczny. Żaden z psów nie wymagał mechanicznej wentylacji.

Liczba oddechów na minutę w grupie TZ zwiększała się stopniowo wraz z upływem czasu przez cały okres zabiegu (Ryc. 11). Istotne statystycznie zmiany zostały odnotowane jednak dopiero od trzeciego punktu czasowego (T3) w porównaniu do wartości wyjściowej (T0) ($p < 0,0002$).

W grupie P liczba oddechów utrzymywała się na stałym i stabilnym poziomie przez cały okres procedury, a różnice pomiędzy punktami czasowymi nie były istotne statystycznie.

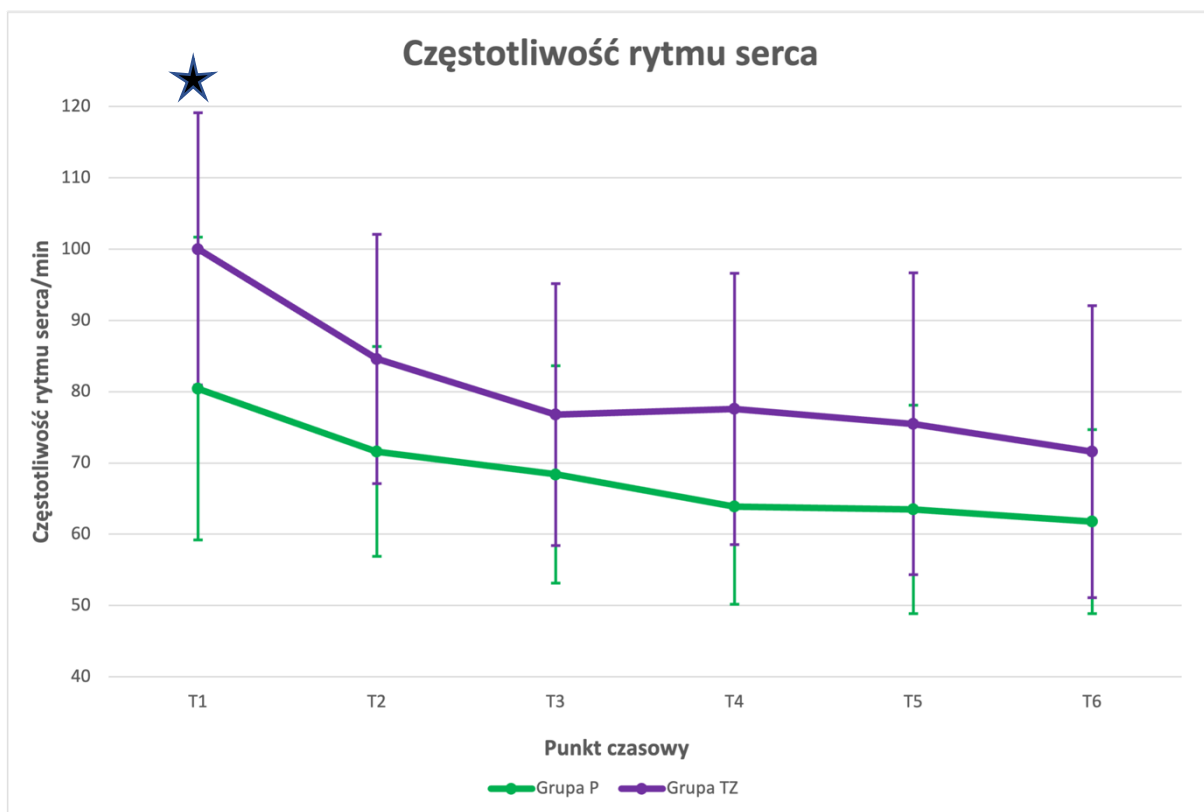
Mimo widocznych rozbieżności w ilości oddechów pomiędzy grupami, analiza statystyczna wykazała istotne różnice jedynie w punkcie czasowym T1 ($p = 0,029$).



Ryc. 11 Wykres średniej liczby oddechów na minutę w grupach TZ i P. Gwiazdką oznaczono istotne statystycznie różnice między grupami w danym punkcie czasowym ($p=0,029$).

9.2.3. Częstotliwość rytmu serca na minutę

Częstotliwość rytmu serca na minutę (HR) w obu grupach zmniejszała się w trakcie trwania zabiegu operacyjnego (Ryc.12). Zarówno w grupie TZ, jak i w grupie P, częstość pracy serca obniżała się w każdym kolejnym punkcie czasowym w porównaniu do wartości wyjściowej (T0) ($p<0,05$). W obydwu grupach HR podczas badania utrzymywał się w granicach normy, na akceptowalnym poziomie. Pomimo widocznie wyższych wartości w grupie TZ, analiza statystyczna wykazała istotność różnic między grupami tylko na początku procedury (T0, $p=0,04$). W pozostałych punktach czasowych obserwowane różnice nie były statystycznie istotne.



Ryc. 12 : Częstotliwość rytmu serca na minutę w grupach TZ i P. Gwiazdką oznaczono istotne statystycznie różnice między grupami w danym punkcie czasowym ($p=0,04$).

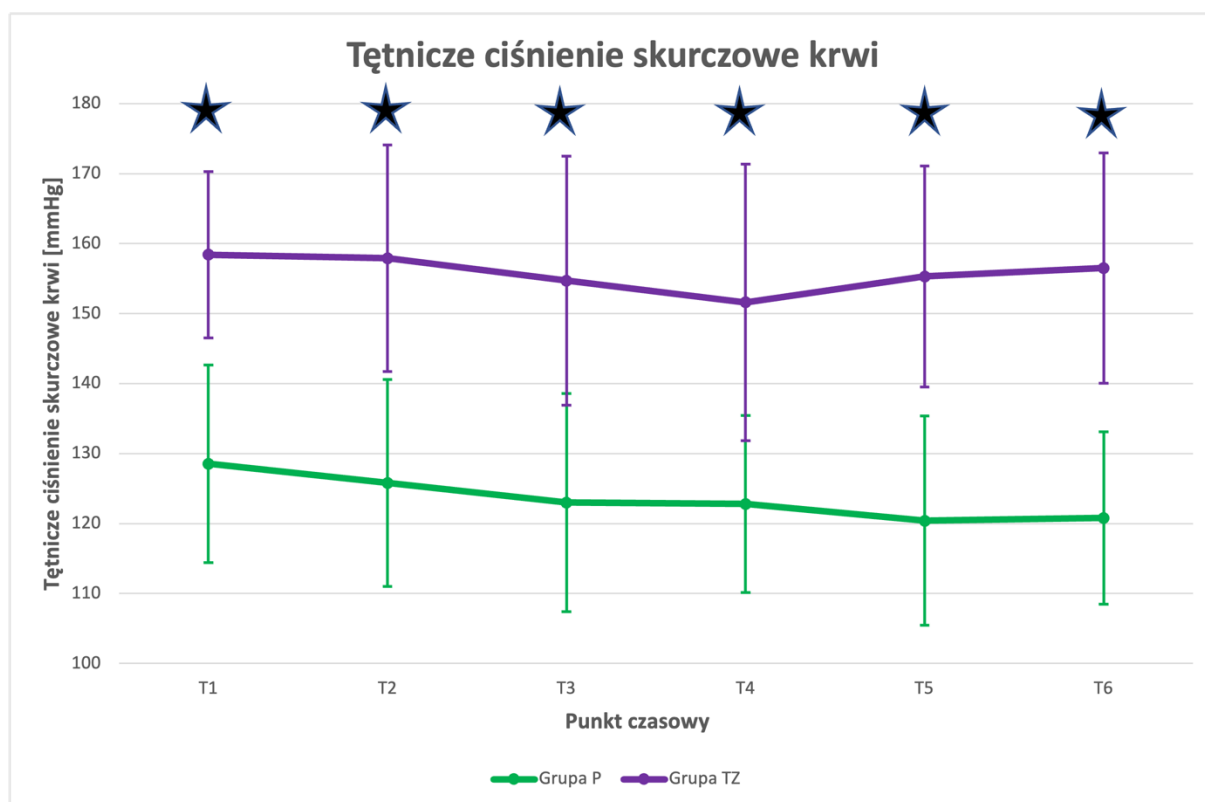
9.2.4. Ciśnienie tętnicze krwi

9.2.4.1. Tętnicze ciśnienie skurczowe krwi

Tętnicze ciśnienie skurczowe krwi w grupie TZ początkowo malało do punktu czasowego T4, a następnie obserwowano utrzymujący się do końca procedury wzrost. Mimo to, nie odnotowano istotnych statystycznie różnic w obrębie grupy ($p > 0,05$).

W grupie P tętnicze ciśnienie skurczowe krwi miało stałą tendencję spadkową do punktu czasowego T6, a następnie zaobserwowano nieznaczny wzrost do punktu czasowego T7. W tej grupie również nie odnotowano istotnych statystycznie różnic w obrębie grupy ($p > 0,05$).

W obu grupach tętnicze ciśnienie skurczowe krwi podczas badania utrzymywało się w granicach normy, na akceptowalnym poziomie. W grupie TZ w każdym punkcie czasowym odnotowano jednak zdecydowanie wyższe wartości od tych w grupie P, uzyskując różnice statystycznie istotne ($p < 0,001$).

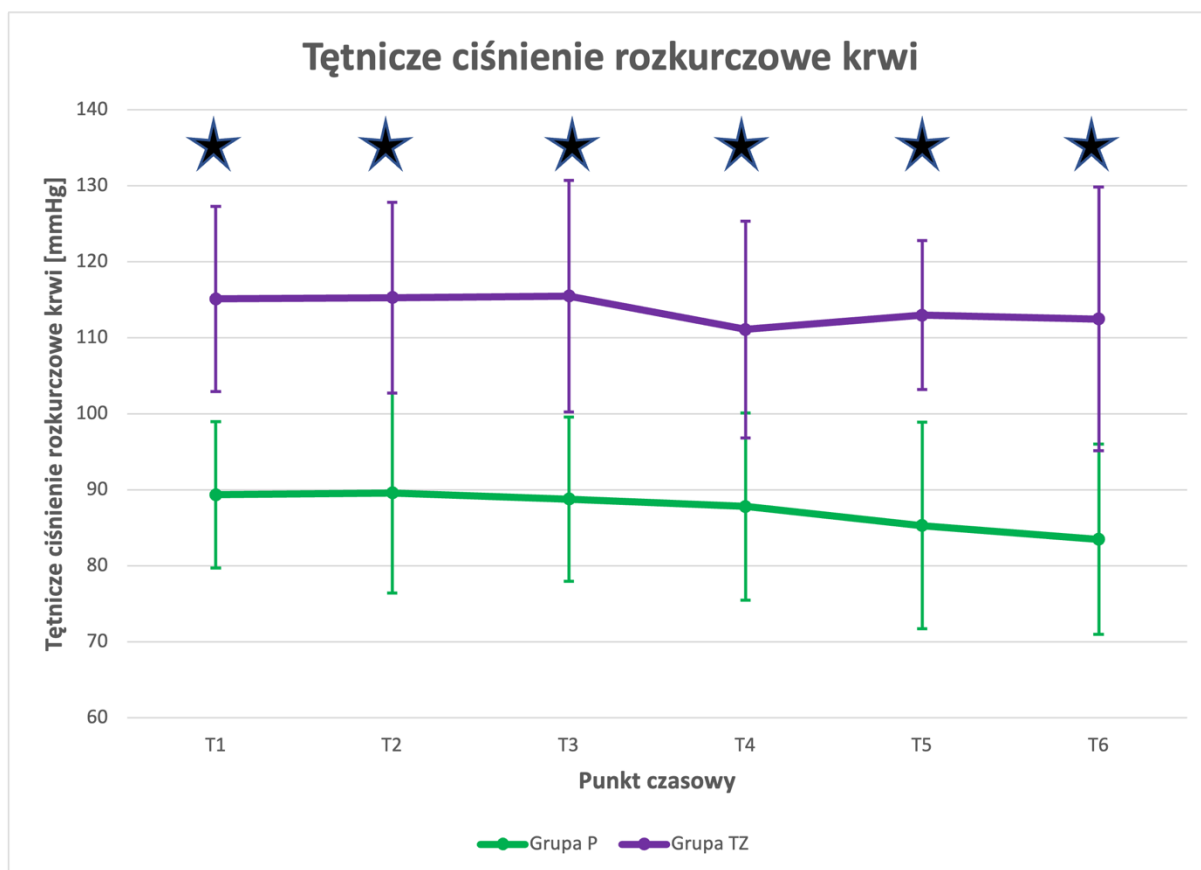


Ryc. 13 Tętnicze ciśnienie skurczowe krwi w grupach TZ i P. Gwiazdką oznaczono istotne statystycznie różnice między grupami w danym punkcie czasowym ($p < 0,001$).

9.2.4.2. Tętnicze ciśnienie rozkurczowe krwi

Tętnicze ciśnienie rozkurczowe krwi w obu grupach utrzymywało się na prawidłowym i stabilnym poziomie do punktu czasowego T3. Następnie w grupie P odnotowano spadek ciśnienia utrzymujący się do końca trwania procedury. W grupie TZ początkowo zaobserwowano spadek ciśnienia rozkurczowego krwi w punkcie czasowym T4, a następnie jego nieznaczny wzrost trwający do zakończenia zabiegu (Ryc. 14). Te nieznaczne zmiany w obu grupach, podczas analizy, nie wykazały istotnych statystycznie różnic ($p > 0,05$).

Grupa TZ osiągała przez cały okres procedury zdecydowanie wyższe wartości rozkurczowego ciśnienia tętniczego krwi w porównaniu z grupą P, co zostało odnotowane jako różnica istotna statystycznie w każdym punkcie czasowym ($p < 0,001$).



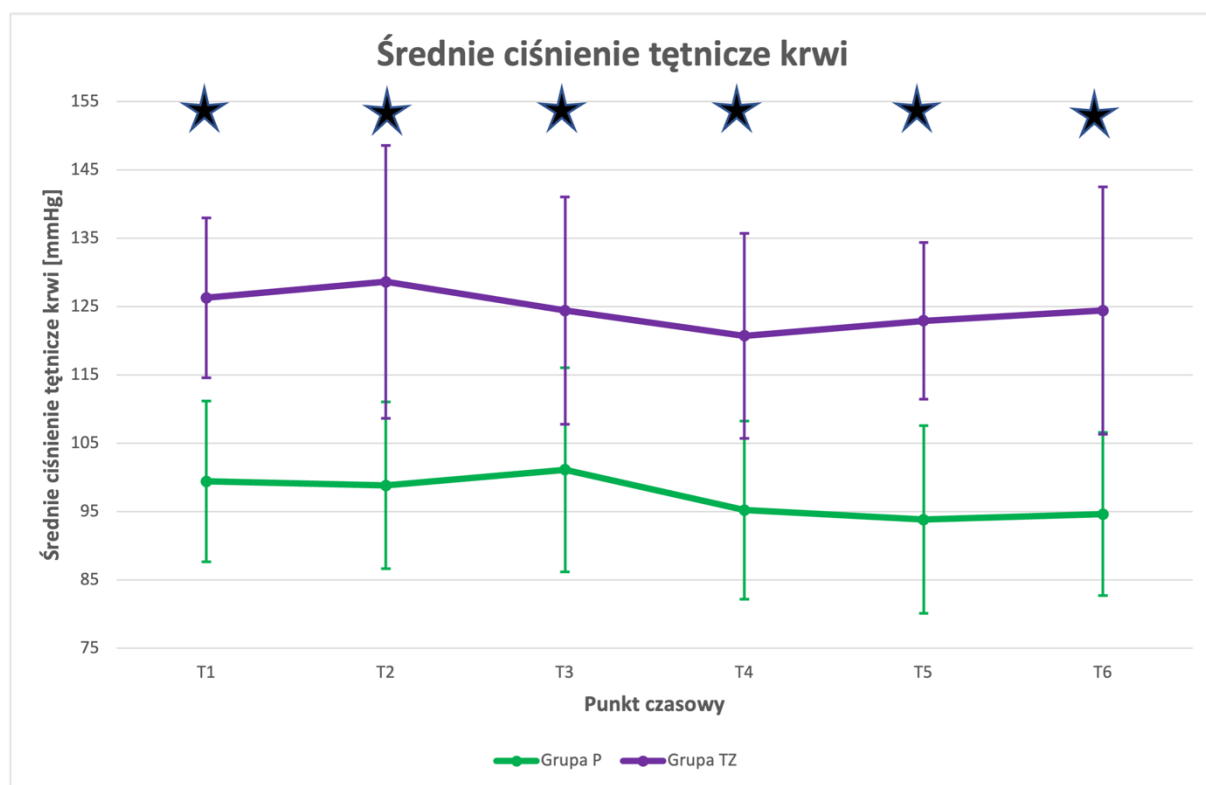
Ryc. 14 Tętnicze ciśnienie rozkurczowe krwi w grupach TZ i P. Gwiazdką oznaczono istotne statystycznie różnice między grupami w danym punkcie czasowym ($p < 0,001$).

9.2.4.3. Średnie ciśnienie tętnicze krwi

W grupie TZ średnie ciśnienie tętnicze krwi było stabilne przez cały okres trwania znieczulenia. Zaobserwowano niewielki wzrost ciśnienia na początku procedury, a następnie jego spadek w kolejnych 20 minutach zabiegu. Od punktu czasowego T4 do końca procedury zaobserwowano niewielki wzrost tego parametru (ryc. 15). Mimo to nie odnotowano statystycznie istotnych różnic między poszczególnymi punktami czasowymi ($p > 0,05$).

Średnie ciśnienie tętnicze krwi w grupie P wykazywało stopniowy wzrost do punktu czasowego T3, a następnie niewielki jego spadek. Od T4 średnie ciśnienie tętnicze krwi w grupie P utrzymywało się na stałym poziomie. Wartości te nie wykraczały poza granice normy. Pomimo niewielkich różnic w wartości badanego parametru, w trakcie zabiegu nie odnotowano statystycznie istotnych różnic między poszczególnymi punktami czasowymi ($p > 0,05$).

Średnie ciśnienie tętnicze porównano również między grupami. Istotne statystycznie różnice pojawiły się w każdym punkcie czasowym, co odzwierciedla wykres pokazujący zdecydowanie wyższe wartości średniego ciśnienia tętniczego krwi w grupie TZ przez cały okres zabiegu ($p < 0,004$).

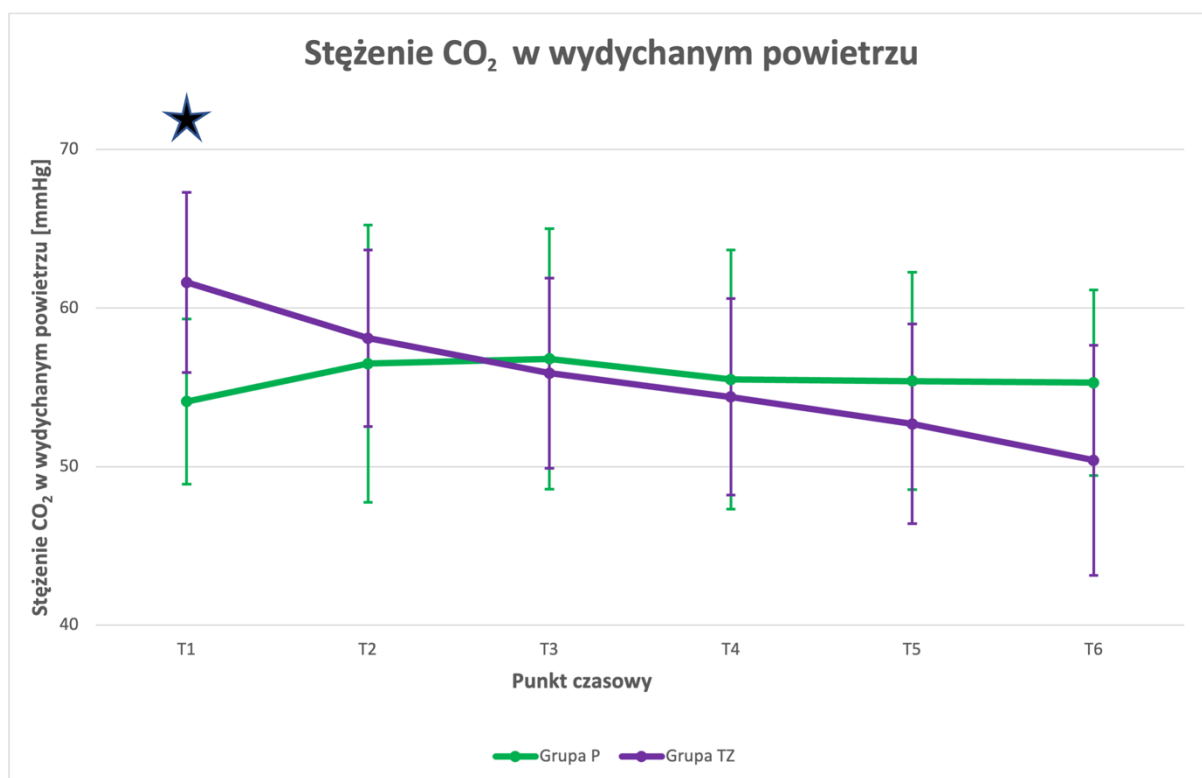


Ryc. 15 Średnie ciśnienie tętnicze krwi w grupach TZ i P. Gwiazdką oznaczono istotne statystycznie różnice między grupami w danym punkcie czasowym ($p < 0,004$).

9.2.5. Stężenie dwutlenku węgla w wydychanym powietrzu

Stężenie dwutlenku węgla w wydychanym powietrzu (ET-CO₂) mierzone było w strumieniu bocznym u wszystkich pacjentów. W grupie TZ odnotowano konsekwentne obniżanie się wartości stężenia dwutlenku węgla w wydychanym powietrzu przez cały okres procedury (Ryc.16). W punkcie czasowym T1 średnia wartość tego parametru wynosiła $61,6 \pm 5,68$ mmHg, podczas gdy w ostatnim punkcie czasowym T6 wartości te wskazywały: $50,4 \pm 7,24$ mmHg. W porównaniu z T1, we wszystkich kolejnych punktach czasowych wartość ET-CO₂ była niższa ($p < 0,023$). W punkcie czasowym T2 odnotowano istotne różnice w porównaniu do T4 ($p = 0,015$), T5 ($p = 0,0002$) oraz T6 ($p = 0,0001$). Różnice wykazano także między T3 a T5-T6 ($p < 0,049$) oraz między T4 a T6 ($p = 0,007$). W grupie P stężenie dwutlenku węgla w wydychanym powietrzu stopniowo wzrastało od początku procedury do punktu czasowego T3, następnie przez kolejne 10 minut obniżało się, a od T4 utrzymywało na podobnym poziomie do końca zabiegu. Mimo różnic w poziomie wartości tego parametru, nie wykazano różnic istotnych statystycznie w obrębie grupy P ($p > 0,05$).

Pomimo tendencji spadkowej w grupie TZ i wzrostowej w grupie P, statystycznie istotną różnicę w wartości ET-CO₂ między grupami, wykazano jedynie w punkcie czasowym T1 ($p = 0,006$).



Ryc. 16 Stężenie dwutlenku węgla w wydychanym powietrzu w grupach TZ i P. Gwiazdką oznaczono istotne statystycznie różnice między grupami w danym punkcie czasowym ($p = 0.006$).

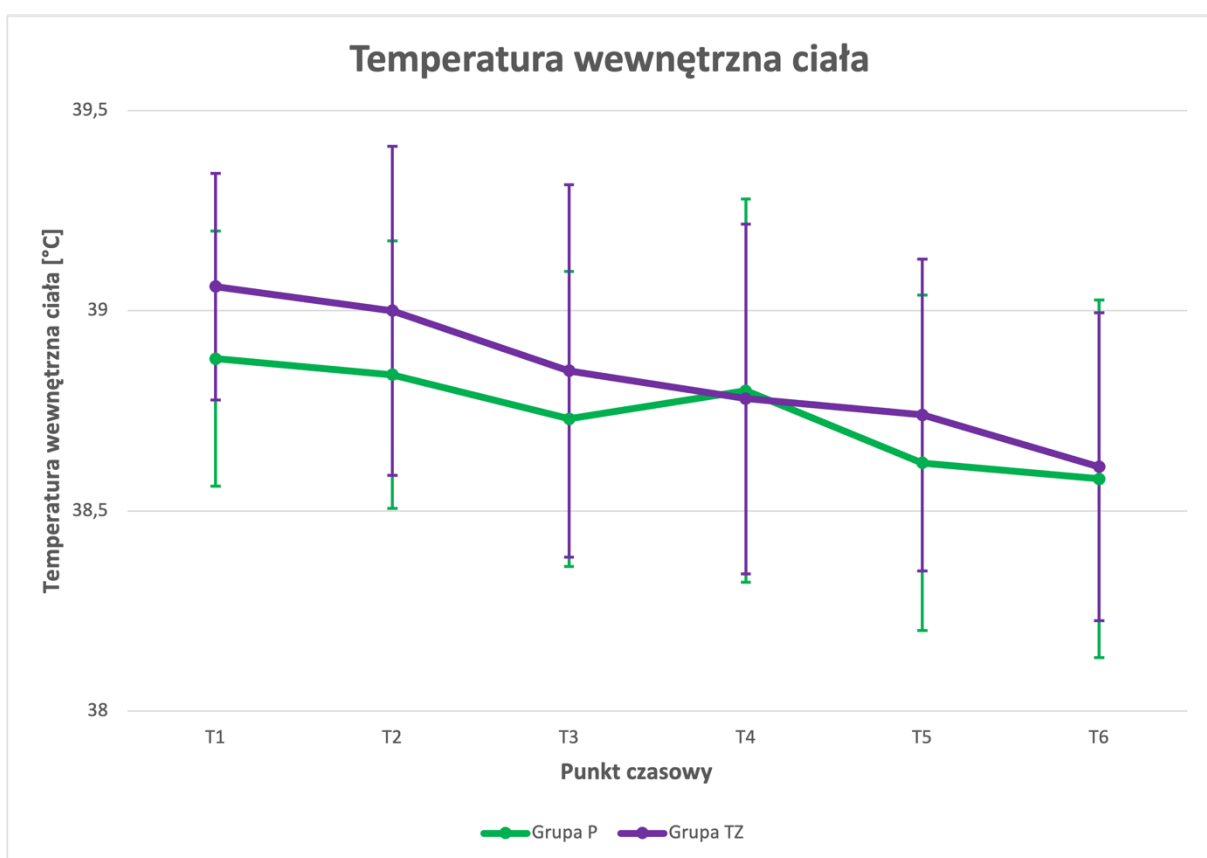
9.2.6. Temperatura wewnętrzna ciała

W grupie TZ temperatura wewnętrzna ciała obniżała się przez cały okres trwania znieczulenia ogólnego (Ryc. 17). Najwyższa temperatura odnotowana została na początku procedury ($39,0 \pm 0,28$ °C), a najniższa na jej końcu ($38,6 \pm 0,38$ °C). Najgwałtowniejszy spadek temperatury zaobserwowano od punktu czasowego T3, co odzwierciedla poziom istotności statystycznej między T3 a T6 ($p = 0,013$), jak również między T1 a punktami czasowymi T4-T6 ($p < 0,004$) oraz między T2 a T4-T6 ($p < 0,039$).

Temperatura wewnętrzna ciała w grupie P malała w trzech kolejnych punktach czasowych (T1-T3). Następnie odnotowano nieznaczny jej wzrost w ciągu kolejnych 10 minut, po czym nastąpił dalszy spadek wartości temperatury wewnętrznej, trwający do końca

procedury. W grupie P analiza statystyczna wykazała istotne różnice między punktami czasowymi: T1 a T5-T6 ($p < 0,013$) oraz T2 a T6 ($p = 0,013$).

Pomimo wyższej temperatury wewnętrznej ciała w grupie TZ w porównaniu z grupą P nie wykazano różnic istotnych statystycznie między grupami w poszczególnych punktach czasowych ($p > 0,05$).



Ryc. 17 Temperatura wewnętrzna ciała w grupach TZ i P. Nie odnotowano istotnych statystycznie różnic między grupami w badanych punktach czasowych.

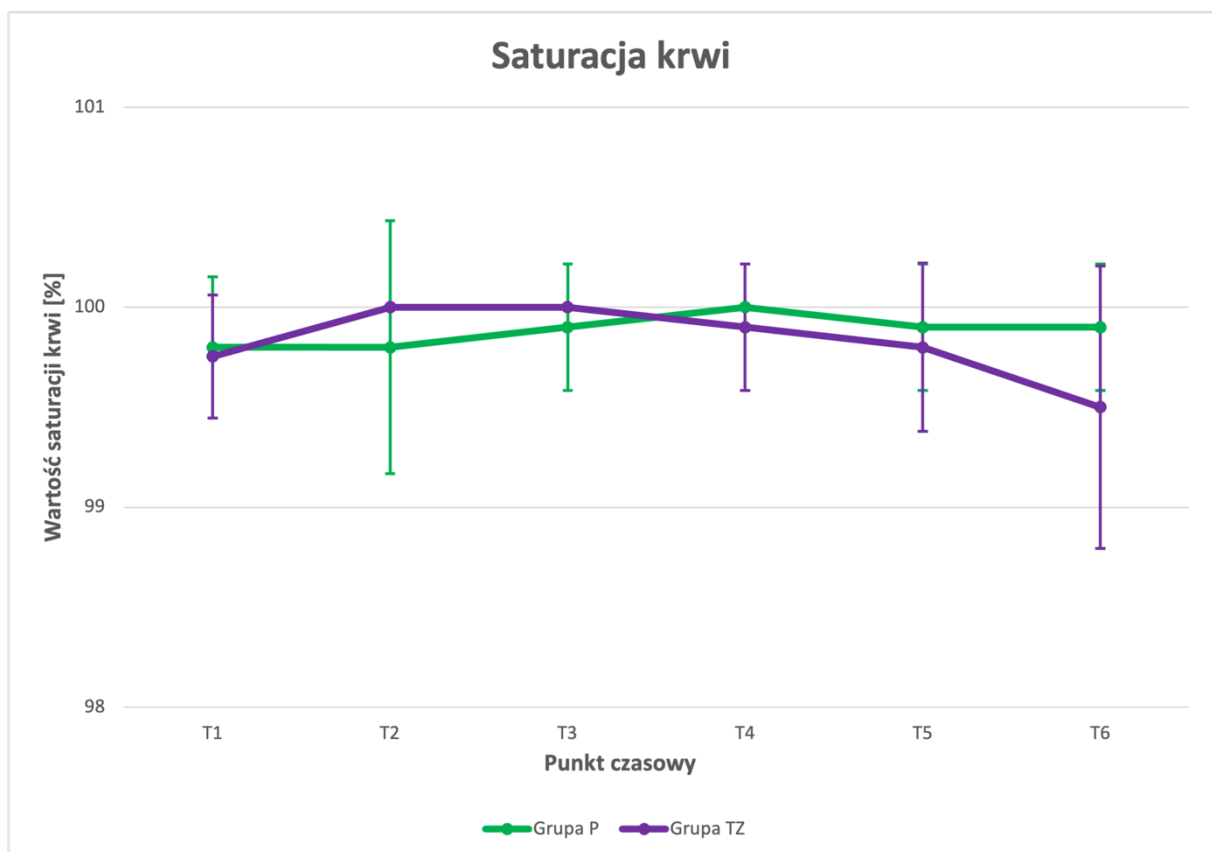
9.2.7. Saturacja krwi

Saturacja krwi w obu grupach mierzona była przy pomocy pulsoksymetru w formie klipsa zakładanego na język pacjenta. W grupie P saturacja utrzymywała się na stałym poziomie bez znaczących zmian (Ryc. 18). Odnotowano pojedyncze spadki saturacji do wartości 99% u

poszczególnych pacjentów, bez znaczenia klinicznego. Analiza statystyczna wykazała brak istotnych różnic w obrębie grupy P ($p > 0,05$).

W grupie TZ saturacja również utrzymywała się w granicach 99-100%, a pacjenci nie wykazywali cech hipoksji. W grupie tej nie wykazano istotnych statystycznie różnic ($p > 0,05$) w kolejnych punktach czasowych.

Dodatkowo wykonano analizę statystyczną porównującą ten parametr pomiędzy grupami TZ a P w danych punktach czasowych również nie odnotowując różnic istotnych statystycznie ($p > 0,05$).



Ryc. 18 Saturacja krwi w grupach TZ i P. Nie odnotowano istotnych statystycznie różnic między grupami w badanych punktach czasowych.

10. Etap III

10.1. Materiały i metody

Ostatni etap doświadczenia obejmował monitoring i ocenę pacjenta w okresie wybudzania po zastosowaniu do znieczulenia ogólnego protokołu anestezyjologicznego z etapu II, opartego na zasadach TIVA przy użyciu tyletaminy z zolazepamem (grupa TZ) lub propofol (grupa P) do indukcji oraz podtrzymania znieczulenia ogólnego.

Całość doświadczenia składająca się z procedur przedanestetycznych, anestetycznych i poanestetycznych przeprowadzana była w Katedrze i Klinice Chirurgii Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

W sprawie przeprowadzenia badań w etapie III zaprezentowanych w rozprawie doktorskiej złożono wnioski do Lokalnej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach we Wrocławiu i na mocy decyzji 067/2021 otrzymano zgodę na przeprowadzenie doświadczenia na zwierzętach będącymi pacjentami Katedry i Kliniki Chirurgii Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

10.1.1. Dobór grup

Pacjenci zostali podzieleni na 2 grupy po 10 zwierząt: grupa badana TZ (tyletamina-zolazepam) i grupa kontrolna P (propofol) podczas etapu II będącego częścią niniejszej rozprawy doktorskiej. Do poszczególnych grup pacjenci dobierani byli losowo w dniu zabiegu przed wykonaniem badania klinicznego.

10.1.2. Warunki środowiska wybudzeniowego

Po zakończeniu etapu II niniejszego doświadczenia wszyscy pacjenci transportowani byli do specjalnego, odosobnionego pomieszczenia bezpośrednio przynależącego do sali operacyjnej. W pomieszczeniu tym umieszczani byli w specjalnych, dedykowanych klatkach wybudzeniowych wyścielonych miękkim, nieprzemakalnym materacem, przy ograniczonym dostępie intensywnego źródła światła, braku bodźców fizycznych, a także mechanicznych.

10.1.3. Metody oceny pacjentów

W okresie poanestetycznym u pacjentów z obu grup przeprowadzano ocenę bólu, poziomu sedacji i jakości wybudzenia oraz analizę czasów: wybudzenia i ekstubacji pacjentów.

Ocena pacjentów według skali Glasgow (Short form of the Glasgow Composite Measure Pain Scale (CMPS-SF)) (tabela 1) oraz Sedation Assessment and Sedation Level (SASL) (tabela 2) wykonywana była w ustalonych punktach czasowych: zaraz po przeniesieniu pacjenta do klatki wybudzeniowej (P 0h), 30 minut (P 0,5h), 1 godzinę (P 1h) oraz 2 godziny później (P 2h).

Wykorzystując skalę CMPS-SF oceniano ból u pacjenta nadając każdej cesze wartość punktową od 0 do 3 lub 4. Oceniano ogólną postawę pacjenta w klatce, reakcję na ranę pooperacyjną oraz reakcję na jej ucisk, a także ogólne samopoczucie i komfort. Jeśli w danym punkcie czasowym wartość ta przekraczała 4, wdrażano analgezję ratunkową: domięśniowe podanie opioidowego leku, metadonu (Comfortan Eurovet Animal Health BV Handelsweg 25 5531 AE Bladel, Holandia), w dawce 0,3 mg/kg m.c. oraz niesteroidowego leku przeciwzapalnego, karprofenu (Scanodyl, ScanVet Poland Sp. z o.o., Skierszewo) w dawce 4

mg/kg m.c. w aplikacji podskórnej. Po zastosowaniu metadonu i karprofenu zakańczano okres badania.

W skali SASL również nadawano wartości liczbowe poszczególnym cechom pacjenta (od 0 do 3, 4 lub 5). Oceniano postawę pacjenta, odruch powiekowy, ustalano pozycję gałek ocznych, poziom relaksacji żuchwy i języka, reakcję na dźwięk klikera, próbę zmiany pozycji z mostkowej na boczną oraz ogólny jego wygląd.

Dodatkowo, mierzono i analizowano czas wybudzenia pacjentów od momentu zakończenia znieczulenia ogólnego do uzyskaniem pozycji mostkowej oraz czas ekstubacji pacjentów liczonego od momentu zakończenia znieczulenia ogólnego do uzyskania odruchu gardłowego.

Glasgow Composite Pain Scale- Short Form (CMPS-SF)								
	OCENA W KLATCE			P 0h	P 0,5h	P 1h	P 2h	
	CZY PIES:							
A	I	jest spokojny/cichy	0					
		popiskuje/kwili	1					
		jęczy	2					
		wyje	3					
	II	ignoruje ranę/bolesną okolicę	0					
		patrzy w kierunku rany/bolesnej okolicy	1					
		liże ranę/bolesną okolicę	2					
		ociera ranę/bolesną okolicę	3					
		gryzie ranę/bolesną okolicę	4					
C	DELIKATNIE UCIŚNIJ MIEJSCE OK. 4 CM WOKÓŁ RANY							
	IV	nie reaguje	0					
		rozgląda się wokół	1					
		wzdryga się/wycofuje	2					
		warczy/broni bolesnej okolicy	3					
		kłapie zębami	4					
		piszczy/płacze	5					
D	OGÓLNE							
	V	jest zadowolony, szczęśliwy, żywotny	0					
		cichy	1					
		obojętny, nie reagujący na otoczenie	2					
		nerwowy, niespokojny, wystraszony	3					
		przygnębiony, nie reaguje na bodźce	4					
	VI	czuje się komfortowo	0					
		niespokojny, wytrącony z równowagi	1					
		nerwowy	2					
		skulony lub spięty	3					
		zesztywniały	4					
	SUMA (I+II+IV+V+VI)							
	Gdy więcej niż 4 → wymagana analgezia							

Tabela 1 Formularz Oceny bólu u pacjenta w skali Glasgow Composite Pain Scale- Short Form (CMPS-SF).

Sedation Assessment & Sedation level in dogs						
			P 0h	P 0,5h	P 1h	P 2h
1	POSTAWA					
	stoi	0				
	stoi z trudem	1				
	leży ale jest w stanie wstać	2				
	leży, podnosi się z trudem	3				
nie jest w stanie podnieść się	4					
2	ODRUCH POWIEKOWY					
	bez zmian/energiczny	0				
	powolny, ale z pełnym oczyszczeniem rogówki	1				
	powolny, ale z częściowym oczyszczeniem rogówki	2				
3	POZYCJA GAŁEK OCZNYCH					
	centralna	0				
	zrotowane bez przysłonięcia trzecią powieką	1				
	zrotowane, przysłonięte trzecią powieką	2				
4	RELAKSACJA ŻUCHWY I JĘZYKA					
	normalne napięcie szczęki, silny odruch wymiotny	0				
	zredukowane napięcie żuchwy, ale nadal umiarkowany odruch wymiotny	1				
	znacznie zredukowane napięcie szczęki, lekki odruch wymiotny	2				
	utrata napięcia szczęki i brak odruchu wymiotnego	3				
5	REAKCJA NA KLAŚNIĘCIE/KLIKER					
	normalna reakcja przestraszenia (głowa obraca się w kierunku dźwięku)	0				
	reakcja osłabiona (niepełne zwrócenie w kierunku dźwięku)	1				
	minimalna reakcja	2				
	brak reakcji	3				
6	OPÓR PRZY ZMIANIE POZYCJI Z MOSTKOWEJ NA BOCZNĄ					
	duży opór do braku możliwości zmiany	0				
	średni opór, ale zmiana jest możliwa	1				
	brak oporu	2				
7	OGÓLNY WYGLĄD/POSTAWA					
	pobudliwy	0				
	czuwający i normalny	1				
	spokojny	2				
	otępiący	3				

Tabela 2 Formularz oceny poziomu sedacji i jakości wybudzenia pacjenta (SASL – Sedation Assesment and Sedation Level).

10.1.4. Dodatkowe procedury

Podczas etapu III odnotowywano dodatkowe efekty uboczne niezawarte w metodach oceny pacjentów, takie jak: wymioty, agresja, ruchy wiosłowe kończyn, mimowolne ruchy mięśni, ślinienie oraz halucynacje. Odnotowywano czas od zakończenia znieczulenia ogólnego do momentu pojawienia się powyższych efektów.

10.1.5. Zakończenie etapu

Etap III uznawano za zakończony pomyślnie, jeśli nie zastosowano analgezji ratunkowej, a pacjent powrócił do świadomości i wykazywał chęć poruszania się. Ze względu na zastosowanie znieczulenia epiduralnego z lignokainy utrzymującego brak możliwości poruszania się na kończynach miednicznych do 4 godzin po zastosowaniu leku zdecydowano, że chęć poruszania się na kończynach piersiowych jest wystarczającym objawem zakończenia etapu poanestetycznego. Następnie podawano leki przeciwbólowe (metadon i karprofen) oraz rozpisywano zalecenia przeciwbólowe do stosowania w warunkach domowych.

10.1.6. Analiza statystyczna etapu III

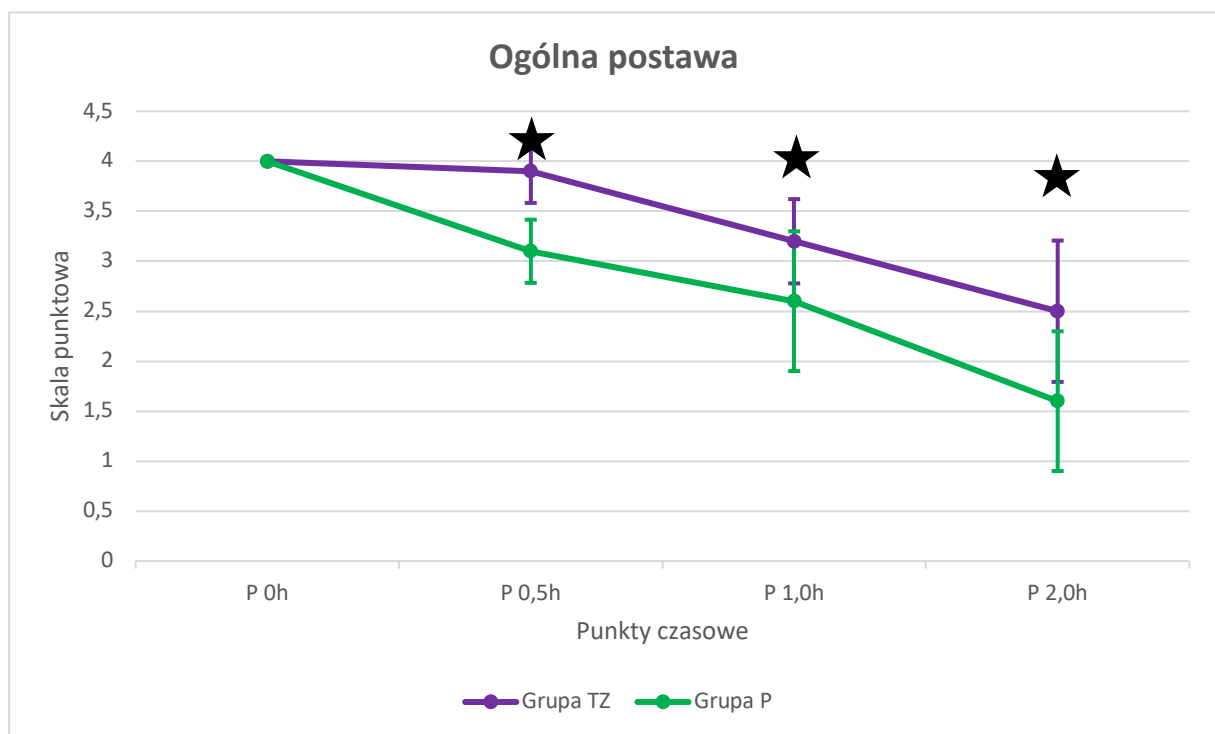
Analiza statystyczna obejmowała statystyki opisowe i testowanie normalności za pomocą Kołmogorowa–Smirnowa. W przypadku odrzucenia hipotezy zerowej o normalności rozkładu zastosowano testy nieparametryczne. W celu porównania różnic między grupami w zakresie czasów niezbędnych do ekstubacji, uzyskania pozycji mostkowej oraz stojącej zastosowano test t-Studenta dla zmiennych niezależnych. Poziom sedacji oraz bólu w trakcie wybudzania w poszczególnych punktach czasowych między grupami porównano wykorzystując test U-Manna Withneya. Analizę statystyczną prowadzono wykorzystując

pakiet STATISTICA (data analysis software system), version 13 firmy TIBCO Software Inc.
(2017) zaś poziom istotności każdorazowo ustalano na 5%.

10.2. Wyniki etapu III

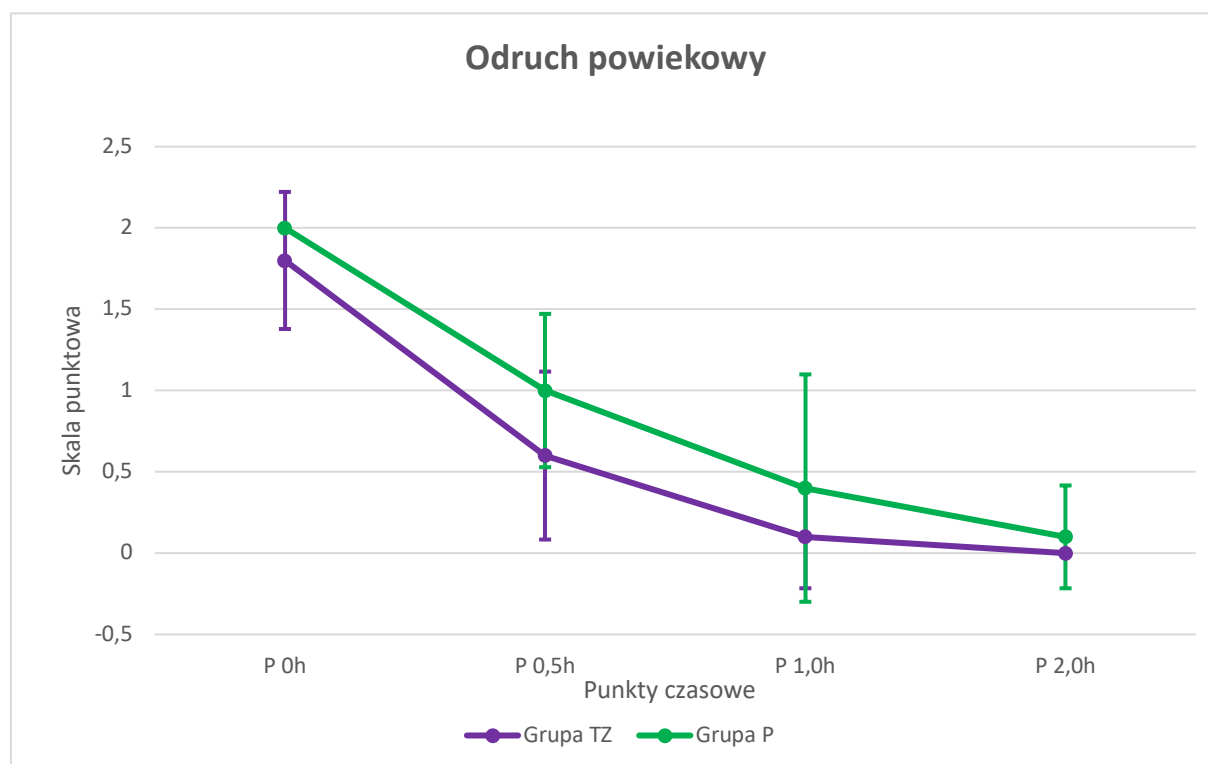
10.2.1. Ocena jakości wybudzenia pacjenta (SASL)

Dzięki ocenie poziomu pooperacyjnej sedacji przy pomocy zastosowanego protokołu (8.3.4. Metody oceny pacjentów, tabela 2) wykazano, że w punkcie czasowym P 0h wszyscy pacjenci w obu grupach wykazywali wysoki poziom sedacji (grupa TZ: $18,2 \pm 1,31$; grupa P: 19). Żaden z pacjentów nie wykazywał objawów bólowych podczas omacywania okolicy rany pooperacyjnej. U każdego z pacjentów możliwa była zmiana pozycji z mostkowej na boczną. Gałki oczne pozostawały zrotowane i przysłonięte trzecią powieką. Nie wykazano statystycznie istotnych różnic pomiędzy grupami ($p > 0,05$).

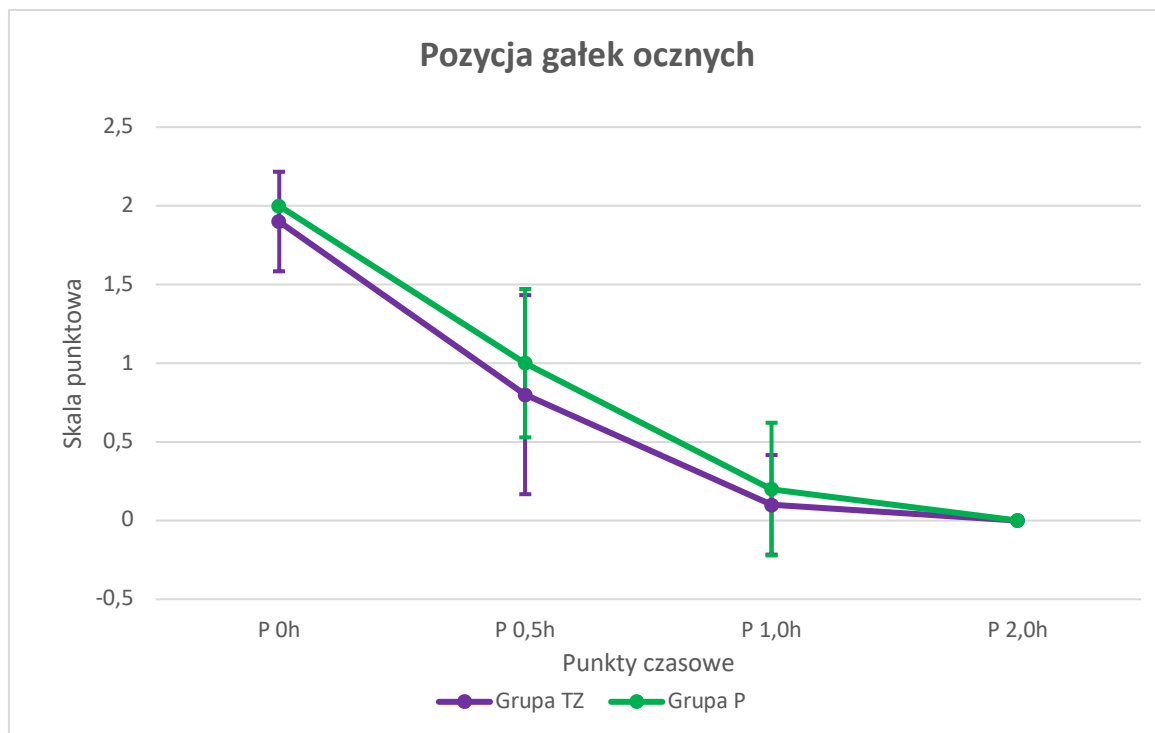


Ryc. 19 Wykres oceny postawy pacjentów w obu grupach w skali SASL – Sedation Assessement and Sedation Level. Gwiazdą oznaczono istotną statystycznie różnicę pomiędzy grupami w danym punkcie czasowym.

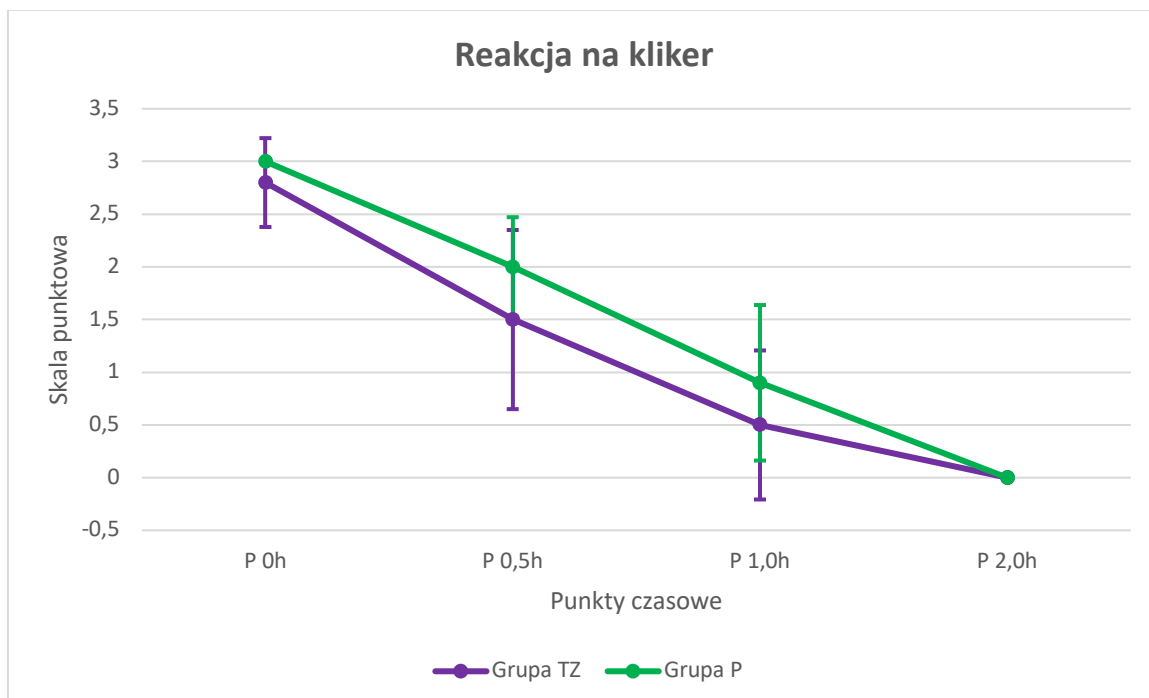
W punkcie czasowym P 0,5h poziom sedacji pacjentów w grupie TZ oceniono średnio na $11,6 \pm 2,01$, podobnie jak w grupie P ocenionej średnio na $11,7 \pm 2,54$ ($p > 0,05$). Ogólna postawa pacjentów w grupie TZ została oceniona na $3,9 \pm 0,32$, a w grupie P: $3,1 \pm 0,32$ (Ryc. 19). Jest to różnica istotna statystycznie ($p = 0,0005$), czego nie odnotowano w porównaniu pozostałych parametrów w tym punkcie czasowym między grupami. Odruch powiekowy u większości pacjentów w grupie TZ powrócił do normy ($0,6 \pm 0,51$), podczas gdy w grupie P tylko pojedyncze osobniki wykazywały powolny odruch powiekowy ($1 \pm 0,47$) (Ryc. 20). Centralna pozycja gałek ocznych została osiągnięta nieznacznie szybciej u pacjentów z grupy TZ ($0,8 \pm 0,63$) niż z grupy P ($1 \pm 0,47$) (Ryc. 21). Reakcja na dźwięk klikera (obrót głowy w kierunku dźwięku) ponownie była porównywalna w obu grupach (TZ $1,5 \pm 0,85$ vs P $2 \pm 0,47$, $p > 0,05$) (Ryc. 22). U wszystkich pacjentów zmiana pozycji z mostkowej na boczną była możliwa (Ryc. 23).



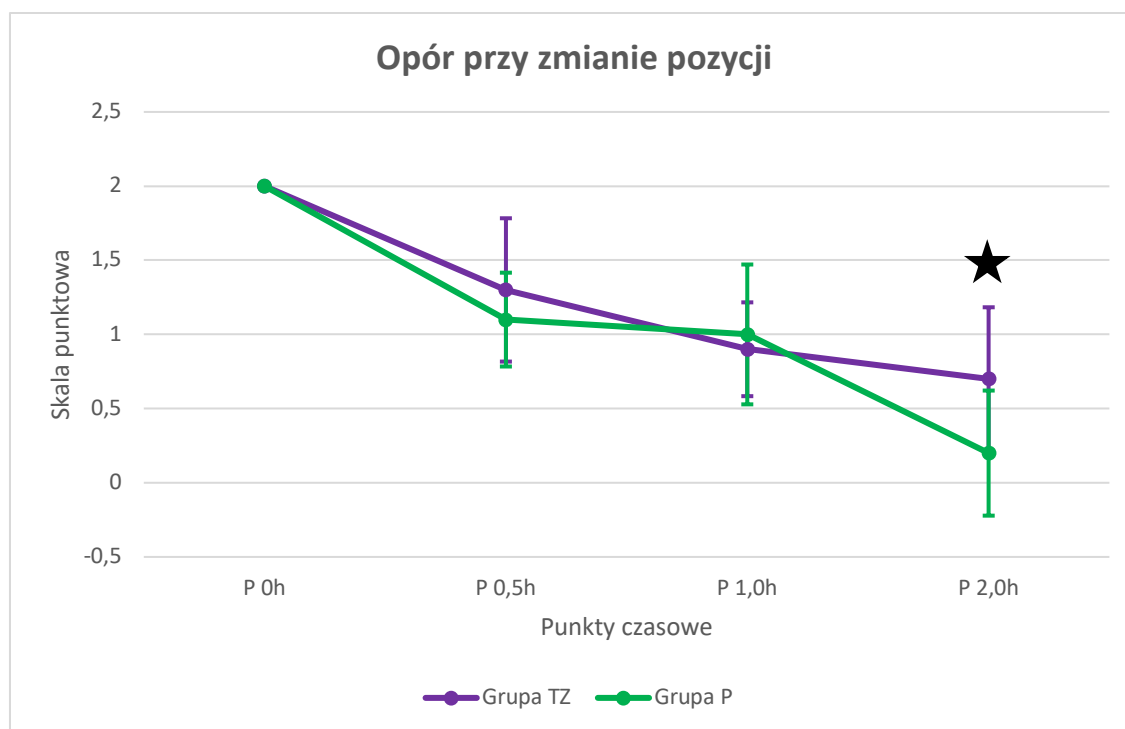
Ryc. 20 Wykres oceny odruchu powiekowego w obu grupach w skali SASL – Sedation Assessment and Sedation Level.



Ryc. 21 Wykres oceny pozycji gałek ocznych w obu grupach w skali SASL – Sedation Assessment and Sedation Level.



Ryc. 22 Wykres oceny reakcji pacjenta na dźwięk klikera w obu grupach w skali SASL – Sedation Assessment and Sedation Level.



Ryc. 23 Wykres oceny oporu pacjenta przy zmianie pozycji z mostkowej na boczną w obu grupach w skali SASL – Sedation Assessment and Sedation Level. Gwiazdą oznaczono istotną statystycznie różnicę pomiędzy grupami w danym punkcie czasowym.

W punkcie czasowym P 1h u większości zwierząt z grupy P ($p > 0,05$) nastąpił powrót odruchu powiekowego oraz została osiągnięta pozycja centralna gałek ocznych. W obu grupach odnotowano podobną, mocniejszą reakcję pacjentów na dźwięk klikera w porównaniu do poprzedniego punktu czasowego. Jednak w omawianym punkcie czasowym mniejsza liczba z grupy TZ uzyskała pozycję stojącą w porównaniu do pacjentów z grupy P ($3,2 \pm 0,42$ vs. $2,6 \pm 0,7$, $p = 0,034$).

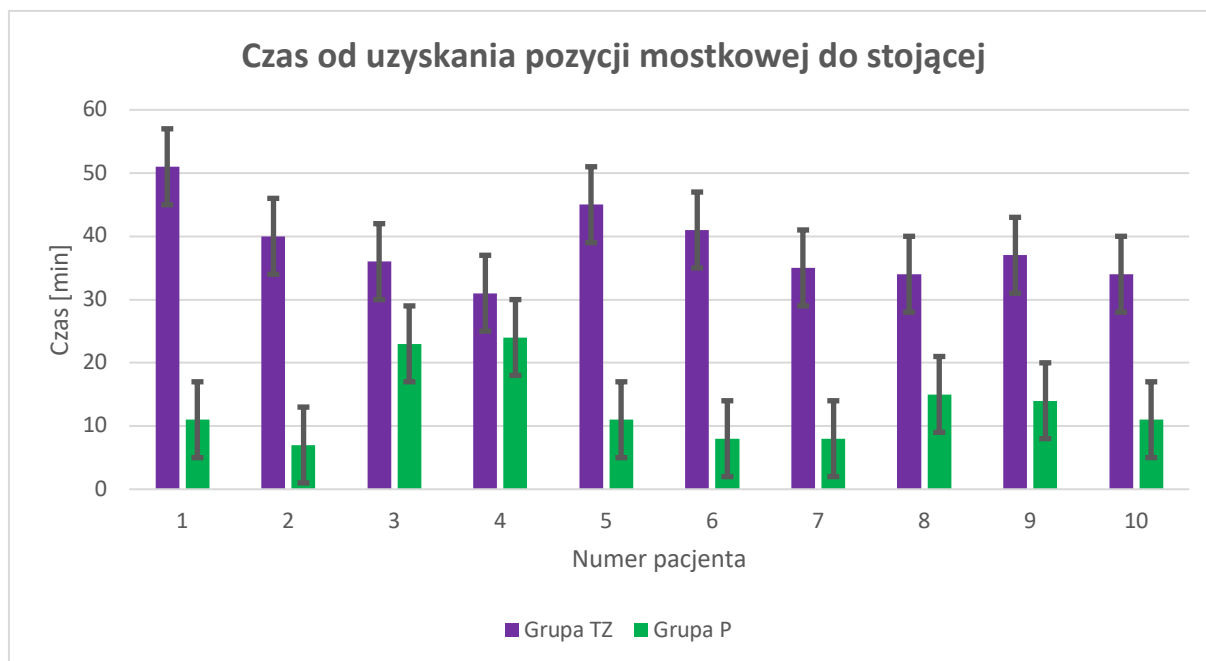
W punkcie czasowym P 2h ogólna postawa pacjentów w grupie P ($1,6 \pm 0,7$) została oceniona lepiej niż w grupie TZ ($2,5 \pm 0,7$), co świadczy o szybszym wybudzeniu zwierząt z grupy otrzymującej propofol ($p = 0,014$). Próba zmiany pozycji wciąż stanowiła problem dla osobników z obu grup, jednak w grupie TZ pacjenci uzyskali średni wynik $0,7 \pm 0,48$, a w

grupie P $0,2 \pm 0,42$ ($p=0,031$). Porównanie pozostałych parametrów w tym punkcie czasowym pomiędzy grupami nie wykazało istotnych różnic.

Dodatkowo, zmierzono czas wystąpienia dodatkowych odruchów mimowolnych w obu grupach. W grupie TZ każdy z osobników wykazywał odruchy mimowolne. Najczęściej w tej grupie, ponieważ aż u 60% osobników, zaobserwowano mimowolne drżenia mięśni tułowia odnotowane średnio $38,83 \pm 5,78$ minut po zakończeniu znieczulenia ogólnego. U 50% pacjentów z grupy TZ wystąpiły ruchy wiosłowe, które pojawiły się $37,2 \pm 4,76$ minut po zakończeniu znieczulenia ogólnego. U 40% pacjentów zaobserwowano również wystąpienie halucynacji, średnio $28 \pm 5,6$ minut po znieczuleniu ogólnym oraz u 20% badanych zwierząt wystąpiło ślinienie ($37 \pm 4,24$ minut po zakończeniu znieczulenia ogólnego). W grupie P u żadnego z osobników nie wystąpiły dodatkowe odruchy mimowolne.

10.2.2. Ocena czasu wybudzenia się pacjentów

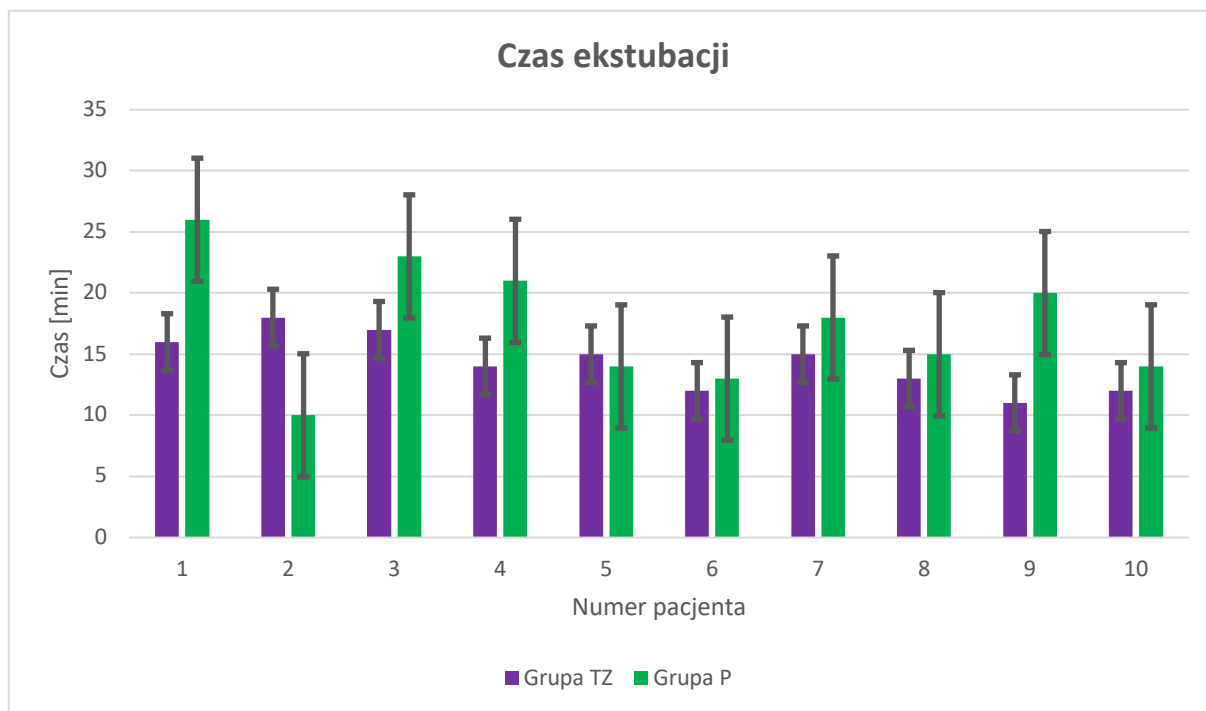
Porównując czas wybudzenia pacjentów z grupy TZ z grupą P, można jednoznacznie stwierdzić, że zwierzęta, u których zastosowano mieszankę leków tyletamina-zolazepam, wybudzały się dłużej. Świadczy o tym między innymi średni czas osiągnięcia pozycji mostkowej a próbą uzyskania pozycji stojącej przez pacjenta. W grupie TZ czas ten był dłuższy ($38,4 \pm 6$ minut) niż w grupie P ($13,2 \pm 5,99$ minut), ($p<00001$) (Ryc. 24).



Ryc. 24 Czas od uzyskania pozycji mostkowej do pozycji stojącej.

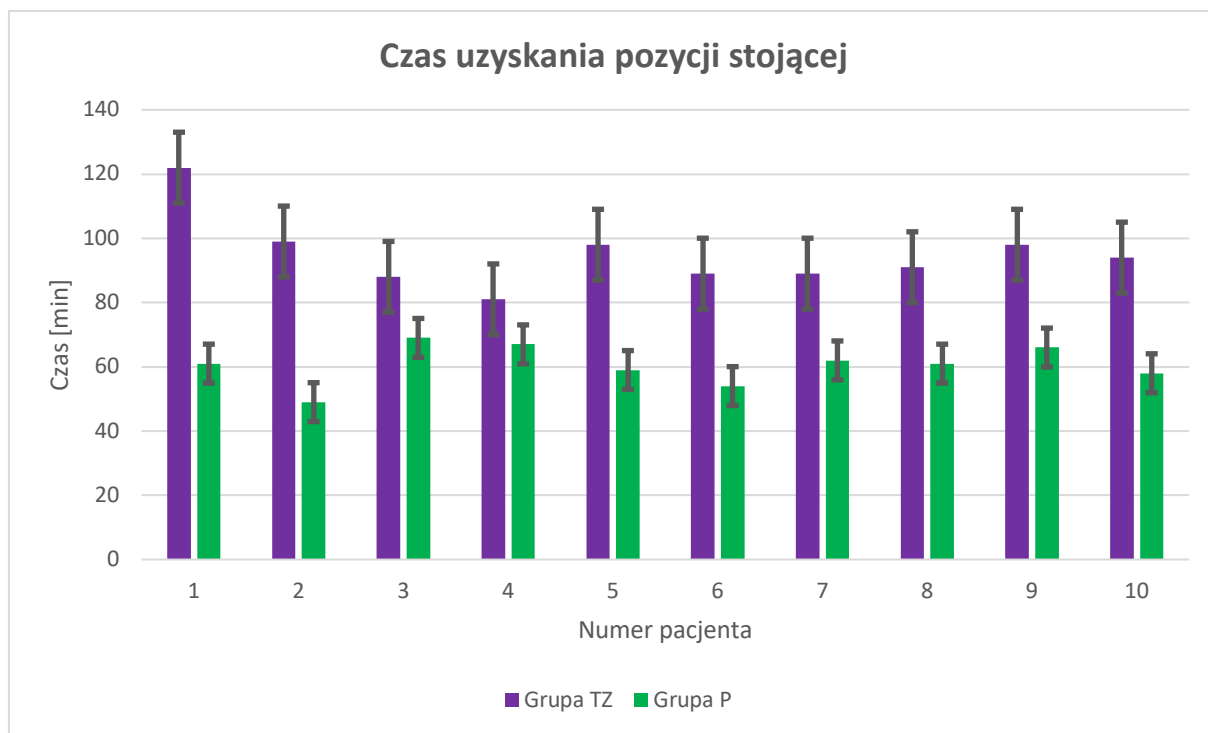
Pacjenci z grupy TZ oraz grupy P odzyskiwali prawidłowe odruchy: powiekowy i rogówkowy oraz reagowali na dźwięk klikera już po 30 minutach od zakończenia znieczulenia ogólnego. Powrót gałek ocznych do pozycji centralnej w obu grupach zajmował około 60 minut.

Powrót odruchu krtaniowego pojawiał się nieznacznie szybciej w grupie TZ niż w grupie P. W obu grupach zmierzono dokładny czas między zakończeniem znieczulenia ogólnego a ekstubacją pacjenta. W grupie TZ i P czasy te były porównywalne i wynosiły kolejno: $14,3 \pm 2,31$ oraz $17,4 \pm 5,03$ minuty, co zobrazowano na wykresie słupkowym (Ryc. 25). Analiza statystyczna również nie wykazała istotnych różnic pomiędzy grupami ($p=0,09$).



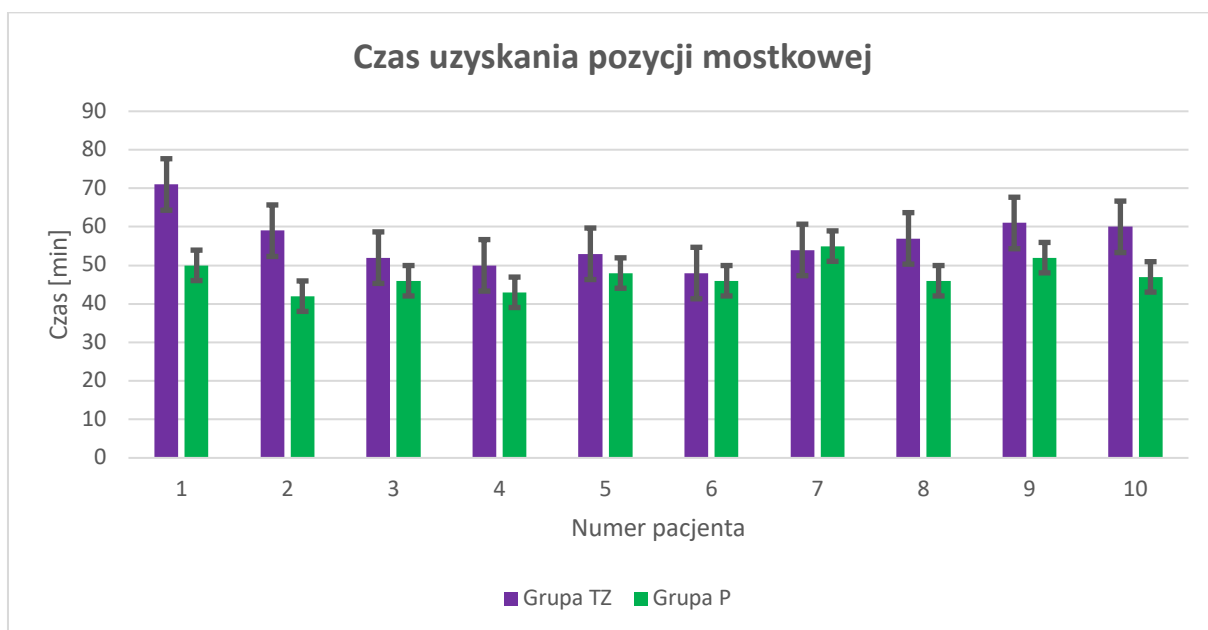
Ryc. 25 Czas między zakończeniem znieczulenia ogólnego a ekstubacją.

Uzyskano znaczące różnice w czasie od zakończenia znieczulenia ogólnego do uzyskania pozycji stojącej. W grupie P czas ten był zdecydowanie krótszy i wynosił $60,6 \pm 6,06$ minut, podczas gdy w grupie TZ wynosił $94,9 \pm 11,03$ minuty ($p < 0,00001$) (Ryc. 26).



Ryc. 26 Czas potrzebny pacjentom do uzyskania pozycji stojącej od czasu zakończenia znieczulenia ogólnego.

Odnotowano również czas między zakończeniem znieczulenia ogólnego a przyjęciem przez pacjenta pozycji mostkowej. W grupie TZ czas ten wynosił $56,5 \pm 6,69$ minuty, podczas gdy w grupie P było to $47,5 \pm 3,95$ minut (Ryc. 27) ($p=0,001$).

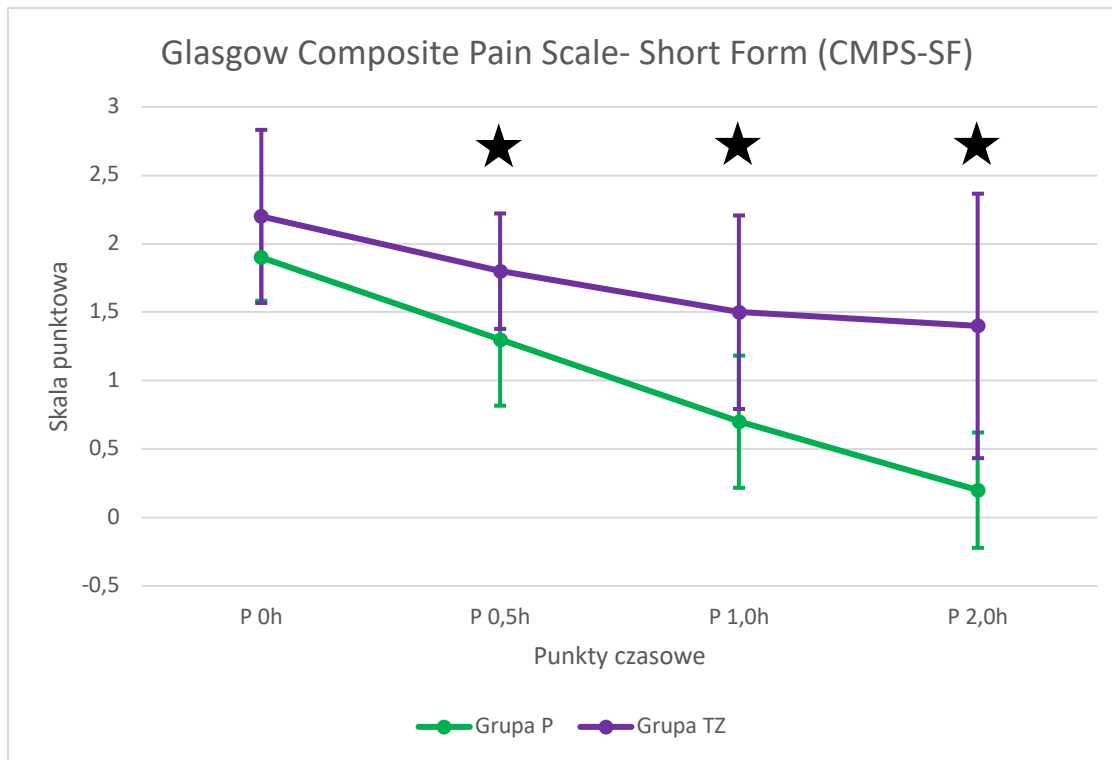


Ryc. 27 Czas uzyskania pozycji mostkowej przez pacjentów w obu grupach.

10.2.3. Ocena skali bólu

U żadnego z pacjentów nie zaobserwowano objawów bólowych wymagających zastosowania analgezji ratunkowej. Pacjenci w obu grupach poddani byli ocenie w 4 punktach czasowych zgodnie z systemem Glasgow Composite Pain Scale – Short Form (CMPS-SF) przedstawionym w rozdziale 8.3.4. Metody oceny pacjentów, tabela 1.

Pacjenci z grupy TZ otrzymywali w każdym punkcie czasowym wyższą liczbę punktów w porównaniu do grupy P. Średni wynik otrzymany w grupie TZ w punkcie czasowym P 0h wynosił $2,2 \pm 0,63$, podczas gdy w grupie P $1,9 \pm 0,32$, jednak nie wykazano statystycznie istotnej różnicy pomiędzy grupami ($p > 0,05$). W odróżnieniu od pozostałych punktów czasowych, w których różnice te stawały się coraz bardziej wyraźne. W punkcie czasowy P 0,5h w grupie TZ osiągnięto wyższy wynik ($1,8 \pm 0,42$), niż w grupie P ($1,3 \pm 0,48$) ($p = 0,03$). W punkcie czasowym P 1h wartości te w grupie TZ ($1,7 \pm 0,71$) były zdecydowanie wyższe niż w grupie P ($0,7 \pm 0,48$), ($p = 0,011$). Natomiast w punkcie czasowym P 2h w grupie TZ pacjenci otrzymali wynik $1,4 \pm 0,97$, a w grupie P: $0,2 \pm 0,42$ wykazując tym samym różnicę istotną statystycznie ($p = 0,004$).



Ryc. 28 Ocena bólu według skali Glasgow Composite Pain Scale- Short Form. Gwiazdką oznaczono różnice istotne statystycznie pomiędzy grupami.

11. Dyskusja

Z roku na rok wiedza o szkodliwym wpływie gazów anestetycznych na środowisko wśród ludzi pogłębia się i ewoluuje, o co zabiegało wielu autorów światowych publikacji^{12,16,72-74}. W 2011 roku Ishizawa i wsp.⁷⁵ określili wszystkie wziewne środki znieczulające jako związki halogenowe niszczące warstwę ozonową. Już rok później Andersen i wsp. wyjaśnili zaistniałe nieścisłości w tych badaniach i wykazali, że wszystkie gazy anestetyczne są zaliczane do gazów cieplarnianych, jednak tylko izofluran posiada w swojej strukturze chlor przyczyniający się do katalitycznego niszczenia stratosferycznego ozonu.

Warto zobrazować sobie skalę problemu, jakim są szkodliwe czynniki środowiskowe wpływające na pogłębienie efektu cieplarnianego. Podczas znieczulenia gazem inhalacyjnym pacjent metabolizuje mniej niż 5% całkowitej ilości podawanego środka znieczulającego, przy czym zdecydowana większość jest rutynowo odprowadzana do atmosfery przez system oczyszczania sali operacyjnej, jeśli oczywiście taki istnieje¹². W wielu krajach, nawet tej rozwiniętej części świata, istnieje mnóstwo gabinetów, szpitali, laboratoriów, w których takich systemów nie ma. Medyczne gazy odpadowe są zwykle odprowadzane z budynków do atmosfery pozostając w niej przez długi czas jako gazy cieplarniane⁷⁶. Ponadto warto wspomnieć o odpadowych gazach anestezyjologicznych (WAG), do których należą izofluran, sewofluran, desfluran i podtlenek azotu, czyli o anestetykach wziewnych obecnych głównie w powietrzu na sali operacyjnej i w pomieszczeniach opieki poanestetycznej^{2,77}. WAG zanieczyszczają te miejsca najczęściej w wyniku celowych nieszczelności układów oraz maszyn anestetycznych, a także wydychania ich z dróg oddechowych pacjentów¹⁹. Badania przeprowadzone w amerykańskim akademickim ośrodku medycznym wykazały, że gazy znieczulające odpowiadają za ponad 50% śladu węglowego sal operacyjnych^{17,78}. Nie bez

powodu mówi się więc, że anestezjologia odgrywa znaczącą rolę w emisji szkodliwych czynników środowiskowych wpływających na pogłębienie efektu cieplarnianego^{79,80}.

W wielu krajach istnieją limity narażenia zawodowego na WAG, ale rzadko są one przestrzegane, zwłaszcza w małych klinikach weterynaryjnych. Warto w tym miejscu również wspomnieć o negatywnym wpływie gazów znieczulających na personel mający z nimi styczność – takim jak ból głowy, drażliwość, zmęczenie, nudności, zawroty głowy, trudności z koncentracją, koordynacją, a nawet poważniejsze objawy, takie jak uszkodzenie nerek i wątroby oraz stany neurodegeneracyjne^{2,77,81,82}. Ponadto Sherman i wsp.⁸³ przyznają, że WAG ma działanie mutagenne oraz teratogenne, sugerując konieczność zastosowania całkowitego znieczulenia dożylnego (TIVA), gdy na sali operacyjnej jest obecna osoba w ciąży.

Naukowcy zaczęli się zatem zastanawiać nad możliwością ograniczenia emisji tych szkodliwych czynników środowiskowych. Początkowo rozważano możliwość zastąpienia tlenu i powietrza w mieszaninie z gazem znieczulającym, aby zmniejszyć szkodliwy wpływ anestetyku na środowisko. Jednak po zastąpieniu mieszaniny gazów nośnych podtlenkiem azotu (N₂O) wpływ ten okazał się jeszcze większy. N₂O w połączeniu z wzięwnymi anestetykami takimi jak sewofluran i izofluran zwiększa ich negatywny wpływ na środowisko, a w połączeniu z desfluranem, zmniejsza. Jednak, warto wspomnieć, że sam N₂O niszczy warstwę ozonową, a także posiada wskaźnik GWP, co jednoznacznie przekonuje do ograniczenia jego stosowania^{12,16}. W związku z tym naukowcy oraz lekarze zarówno medycyny człowieka, jak i weterynaryjnej zaczęli nawoływać do całkowitej rezygnacji ze stosowania gazów inhalacyjnych. Caycedo-Marulanda i wsp.¹⁰ sugerowali, aby anestezjolodzy w miarę możliwości zastępowali gazy inhalacyjne w swoich protokołach innymi metodami –

znieczuleniem całkowitym dożylnym (TIVA) lub regionalnym, co mogłoby pomóc zredukować emisję szkodliwych czynników środowiskowych.

Celem niniejszego doświadczenia, obejmującego kilkietapowe badania, było zaproponowanie protokołu anestezyjologicznego z wykorzystaniem kombinacji TZ, niewymagającego stosowania anestetyku wziewnego. Izofluran to jeden z najczęściej stosowanych gazów anestetycznych w medycynie weterynaryjnej, dlatego też w pierwszym etapie zdecydowano o przebadaniu konieczności zastosowania właśnie tego gazu przy indukcji znieczulenia tyletaminą i zolazepamem⁸⁴. W badaniu tym wykorzystano metodę Up-and-down Dixona, która zapewnia ograniczenie liczby zwierząt poddanych doświadczeniu do minimum, co jest zgodne z zasadą 3R. W standardowych metodach eksperymentów, mających podobny cel, określona liczba pacjentów jest badana przy każdym z kilku ustalonych poziomów dawki badanej substancji⁶⁰.

W badaniu z etapu pierwszego wartości MAC-ISO uzyskano poprzez wyciągnięcie średniej z 3 *crossover*, zaokrąglając wynik do miejsca dziesiątego. Paul i wsp. stwierdzili, że im więcej *crossover*, tym wyniki są bardziej wiarygodne, jednak poprawność ta zmniejsza się, gdy liczba *crossover* przekroczy liczbę sześciu⁸⁵. Z kolei Dixon sugeruje⁶⁰, aby eksperyment kontynuować do momentu, gdy liczba skrzyżowań wyniesie cztery. W naszym badaniu liczba skrzyżowań wynosi trzy ze względu na skupienie wyników przy wartości MAC równym 0,0%. Na podstawie badań przedstawionych przez Paul i wsp.⁸⁵, uznano, że dalszy eksperyment może wykazać raczej zmienność międzyosobniczą, prowadząc do większej liczby „odstających” szacunków dla wartości MAC.

Indukcja znieczulenia ogólnego kombinacją tyletamina-zolazepam i jego podtrzymanie z wykorzystaniem izofluranu są często opisywane w literaturze^{48,86,87}. W badaniach tych jednak brakuje informacji o wywołaniu odpowiedniego poziomu znieczulenia u psów za pomocą indukcji TZ, a następnie jego podtrzymanie gazem wziewnym, co skłoniło do rozważenia badań Malavasi i wsp.^{88,89} na świniami. Autorzy wykazali, że TZ w podaniu domięśniowym znacząco obniża MAC-ISO u tego gatunku zwierząt. Ponadto, zastosowanie wartości początkowej ET-ISO znacznie różniącej się od wartości będącej rezultatem badań, mogłaby wpłynąć na wynik końcowy doświadczenia, jak również zwiększyć liczbę pacjentów konieczną do osiągnięcia z góry określonej liczby *crossover*. Dodatkowo, pacjenci, u których wartość ET-ISO różni się znacznie od wartości progowej, wygenerują wyniki znacznie odstające, wpływając w ten sposób na oszacowanie MAC⁸⁵. Z powyższych względów zdecydowano o zastosowaniu u pierwszego pacjenta ET-ISO na poziomie 0,7 obj. %.

Oszacowanie odpowiedniej wartości ET-ISO, zmiennej u kolejnych pacjentów, zostało oparte na badaniach Paul i wsp.⁸⁵, którzy zalecają, aby wartość ta była stała oraz mieszcząca się w granicach 10-15% wartości oczekiwanej^{90,91}. Dla ułatwienia poszukiwać finalnej wartości ET-ISO, zdecydowano o zmianie omawianego parametru o 0,1 obj. % u kolejnych pacjentów. Jest to najmniejsza wartość, o jaką można obniżyć, jak również podwyższyć stężenie ET-ISO. Dodatkowo, w dostępnych opracowaniach autorzy uznają, że wyższe wartości ET-ISO stosowane u kolejnych pacjentów skutkują zmniejszeniem liczby osobników niezbędnych do zakończenia badania, jednak z drugiej strony szacunkowa wartość MAC może wówczas wzrastać, co prowadzi do zafałszowaniem uzyskanych wyników⁸⁵.

W większości badań innych autorów, którzy oceniali reakcję pacjentów na stymulację, szkodliwym bodźcem był ucisk w okolicy ogona^{62,92}. Natomiast w doświadczeniach własnych

stymulacja była bardziej rozbudowana i obejmowała różne rodzaje bodźców (ucisk na opuszkę łapy, paliczek palca, ucisk skóry w okolicy pachwiny i zaciskanie kleszczyków Backhaus na skórze). Celem takiego postępowania było uzyskanie silniejszego bodźca a tym samym bardziej wiarygodnej oceny poziomu sedacji i analgezji u badanych pacjentów.

Dostępne w literaturze protokoły znieczulenia multimodalnego opisując wykorzystanie tyletaminy-zolazepamu, niezależnie od drogi podania, łączą tą mieszaninę leku z wysokim stężeniem izofluran^{48,87,93}. W etapie I własnego doświadczenia udowodniłam, że przy indukcji znieczulenia ogólnego tyletaminą z zolazepamem w dawce 5 mg/kg m.c. IV u psów użycie izofluran nie jest konieczne do podtrzymania stanu znieczulania ogólnego przy krótkich procedurach trwających 15-30 minut. Dodatkowo, warto wspomnieć o znaczeniu łagodniejszej premedykacji zastosowanej w tym etapie badań. W dostępnym piśmiennictwie kombinacja opioidów z alfa 2 agonistami jest powszechnie opisywana, jednak stosowane dawki są znacznie wyższe, co ogranicza ich zastosowanie do pacjentów w dobrym stanie ogólnym^{94,95}. Użycie niższych dawek medetomidyny i butorfanolu pozwoli na ich szersze zastosowanie.

W powyższym badaniu nie wzięto pod uwagę techniki znieczulenia low-flow (znieczulenia niskoprzepływowego). Zmniejszenie ilości gazu znieczulającego poprzez zastosowanie znieczulenia niskoprzepływowego jest oczywistym sposobem na zmniejszenie emisji tych gazów do środowiska⁹⁶⁻⁹⁸. Warto jednak wspomnieć, że w medycynie weterynaryjnej stosowanie znieczulenia niskoprzepływowego nie jest powszechne, głównie ze względu na brak odpowiedniego sprzętu kluczowego do monitorowania stężenia wdychanego tlenu i unikania hipoksji przy stosowaniu niskiego przepływu świeżych gazów (FGF)^{20,98,99}. Dodatkowo, przy krótkich procedurach weterynaryjnych trudno jest zastosować zasadę znieczulenia niskoprzepływowego, w której zaleca się stosowanie wysokiego przepływu gazu

do czasu ustabilizowania się wartości MAC, a następnie obniżenie przepływu do niskich wartości⁹⁶.

W etapie I niniejszego doświadczenia parametry życiowe pacjentów utrzymywały prawidłowe wartości przez cały okres badania. Częstotliwość rytmu serca w ciągu 14-16 minut po indukcji obniżyła się, aby następnie utrzymywać się na podobnym poziomie przez całą procedurę. Tak znaczny spadek wartości częstotliwości rytmu serca był głównie spowodowany działaniem α_2 -agonisty. Medetomidyna w zależności od dawki może spowodować obniżenie częstotliwości rytmu serca, a nawet bradykardię¹⁰⁰⁻¹⁰². Wpływ tyletaminy i zolazepamu na ten parametr opisywana jest w literaturze bardzo różnie, nie tylko z powodu różnic w dawkowaniu. Hampton i wsp.⁴⁸ ocenili w swoich badaniach, że u psów po podaniu TZ w dawce 5 mg/kg m.c. HR wzrosła znacznie w porównaniu do parametrów wyjściowych. Natomiast inne badania wykazują, że po indukcji dożylną tą samą dawką TZ częstotliwość rytmu serca nie zmieniła się⁸⁶.

Wartość ciśnienia tętniczego krwi jest parametrem, który obrazuje zmienność hemodynamiczną pacjentów po zastosowanych lekach. Medetomidyna wpływa na receptory α_2 -adrenergiczne aktywując je w naczyniach obwodowych powodując wazokonstrukcję, czego skutkiem może być hipertensja. Czas trwania podwyższonego ciśnienia tętniczego krwi u psów jest ściśle związane z dawką α_2 -agonisty¹⁰². Jednak średnie ciśnienie tętnicze krwi u pacjentów w etapie I niniejszego doświadczenia początkowo obniżało się, a następnie utrzymywało na podobnym poziomie. Spadek ciśnienia jest nieznaczny i utrzymuje się w granicach normy, zarówno w zakresie skurczowego, rozkurczowego, jak i średniego ciśnienia tętniczego krwi, co według dostępnej literatury można przypisać działaniu tyletaminy i zolazepamu. Autorzy opisują spadek ciśnienia tętniczego krwi u pacjentów po podaniu TZ w dawce 5 mg/kg m.c.

jako niewielki lub nawet nieznaczny, co znajduje odzwierciedlenie w wynikach niniejszego doświadczenia^{48,86}.

Podczas trwania całej procedury pacjenci nie reagowali na stymulację bólową, co w połączeniu z wartościami parametrów życiowych udowadnia, że poziom znieczulenia ogólnego oraz wywołanej analgezji utrzymywał się na dobrym poziomie. Pozwoliło to na obniżanie stężenia izofluranu u kolejnych pacjentów, aż do jego całkowitej redukcji. Malavasi i wsp.⁸⁹ ocenili, że przy użyciu medetomidyny z tyletaminą-zolazepamem u świń poziom stężenia izofluranu obniżyło się o 68%. Obniżenie izofluranu przy zastosowaniu do indukcji znieczulenia ogólnego samej medetomidyny u psów oraz jedynie tyletminy-zolazepamu u kóz zostało również opisane w innych opracowaniach^{103,104}.

Biorąc pod uwagę wyniki etapu I zdecydowano, że w etapie II doświadczenia całość protokołu anestezjologicznego zostanie oparta na zasadach TIVA, bez użycia gazów anestetycznych. Dodatkowo, w etapie tym zastosowano głęboką premedykację, wykorzystując w tym celu deksmedetomidynę, co pozwoliło na obniżenia dawki TZ w indukcji oraz zastosowanie stosunkowo niskich dawek badanej kombinacji w podtrzymaniu.

Do indukcji oraz podtrzymania znieczulenia wykorzystano w grupie badanej tyletaminę z zolazepamem, zaś w grupie kontrolnej propofol, który jest jednym z najbardziej popularnych leków stosowanych w protokołach anestezjologicznych. Związek ten, należący do grupy fenoli, ma głównie działanie sedacyjne, które następuje już po kilkunastu sekundach od podania dożylnego, dzięki czemu stał się lekiem szeroko stosowanym zarówno w medycynie weterynaryjnej, jak i medycynie człowieka. Wykorzystanie propofolu do indukcji i podtrzymania znieczulenia ogólnego, podobnie jak w przypadku badanej kombinacji leków,

ogranicza zastosowanie gazów inhalacyjnych. Niemniej jednak, dane literaturowe wskazują, że jego niekorzystny wpływ na środowisko również jest znaczący. Propofol jest wykrywalny w ściekach szpitalnych, co związane jest głównie z jego nierozważnym rozlewaniem, niewłaściwą utylizacją, jak również poprzez bezpośrednie wylanie do kanalizacji^{83,105}. Propofol nie ulega biodegradacji w wodzie, czy w glebie, które to zanieczyszczane są przez nieprzemyślane pozbywanie się tego leku. Warto wspomnieć, że posiada on wysoki poziom bioakumulacji, przez co jest bardzo toksyczny dla organizmów wodnych powodując długo utrzymujące się niekorzystne skutki. Dodatkowo, z uwagi na zawartość substancji czynnej w roztworze (dostępne stężenia 1% i 2%) objętości niezbędne do uzyskaniażądanego efektu są stosunkowo duże. Propofol uzyskał wskaźnik PBT (Persistent, Bioaccumulative, Toxic, tj. wskaźnik trwałości, bioakumulacji, toksyczności) równy 6 w skali 9 stopniowej¹⁰⁶. Jest to wskaźnik służący do oceny ryzyka środowiskowego leków wykorzystywany przez Europejską Agencję Chemikaliów (ECHA – European Chemical Agency) działającą pod zwierzchnictwem Unii Europejskiej. Przedstawione dane, wyraźnie wskazują na niekorzystne oddziaływanie propofolu na środowisko. Powinno to skłonić lekarzy do bardziej przemyślanego wykorzystywania omawianego leku i w miarę możliwości, zastąpienia go substancjami o mniejszym wpływie środowiskowym. Alternatywę może stanowić właśnie mieszanina tyletaminy z zolazepamem. W dostępnej literaturze nie ma informacji o wskaźniku PBT dla tej mieszaniny leków, chociaż dostępne są informacje o ketaminie i midazolamie, które nie są składnikami uważanymi za trwałe, nie wykazują zdolności do bioakumulacji oraz nie posiadają właściwości toksycznych (PBT). Ketamina i midazolam należą do tych samych grup leków i mają podobne właściwości fizykochemiczne, co kolejno tyletamina oraz zolazepam, w związku z tym można przypuszczać, że również nie będą podlegać wskaźnikowi PBT. Dodatkowo, z uwagi na zdecydowanie mniejsze objętości TZ stosowane u pacjentów (dawki o 200% mniejsze objętościowo) uznano ten lek za korzystny kompromis w porównaniu z propofolem.

Tyletamina z zolazepamem we wlewie ciągłym (CRI) została co prawda opisana w literaturze, jednakże żaden z autorów nie wykorzystał tej mieszaniny leków jako jedynej substancji podtrzymującej znieczulenie ogólne. Do indukcji znieczulenia wykorzystywano TZ w dawce od 1 do 2 mg/kg m.c. IV, a do CRI od 1–2 mg/kg/h. Warto wspomnieć, że w doświadczeniu Pereira i wsp. nie przeprowadzano zabiegu chirurgicznego, a jedynie stymulację bólową, natomiast Kucharski i wsp. do podtrzymania znieczulenia ogólnego wykorzystali dodatkowo gazy anestetyczne^{107,108}.

W II etapie doświadczenia efektywność indukcji znieczulenia ogólnego w obu grupach została oceniona na podstawie możliwości intubacji pacjenta. W grupie TZ czas od podania indukcji do zaintubowania był niemal 4-krotnie wyższy niż w grupie P. Czas uzyskania skutecznej indukcji znieczulenia po podaniu tyletaminy i zolazepamu opisywany jest w literaturze niejednoznacznie. Ocena opiera się głównie na analizie ogólnej sedacji pacjenta i wynosi od kilkunastu sekund do nawet 2 minut^{44,107,108}. Warto zaznaczyć, że dawki stosowane do indukcji znieczulenia przez innych autorów oscylują w przedziale 1-20 mg/kg m.c. IV^{44,47,50,93,108}. W etapie II niniejszego doświadczenia wykorzystano TZ w dawce 0,5 mg/kg/m.c. Dodatkowo, u pacjentów zastosowano lekką premedykację. Wszystko to może być powodem uzyskania dłuższego czasu niezbędnego do osiągnięcia indukcji skutkującej możliwością intubacji pacjentów.

Sugerując się wynikami badań Pereira i wsp., w których autorzy stwierdzają, że przy zastosowaniu indukcji oraz podtrzymania znieczulenia w CRI przy pomocy TZ należy uzupełnić protokół o komponentę analgetyczną, zdecydowano wprowadzić do protokołu etapu II znieczulenie zewnątrzoponowe. Przy zabiegach chirurgicznych w obrębie kończyn

miednicznych jest to znieczulenie bezpieczne i efektywne przy zastosowaniu niewielkich dawek leku analgetycznego.

Liczba oddechów u psów po zastosowaniu tyletaminy i zolazepamu zależna jest od dawki leku oraz drogi podania^{48,50,107,109}. Wyniki RR dla grupy badanej II etapu sugerują, że początkowa niska liczba oddechów mogła być rezultatem zastosowania do premedykacji $\alpha 2$ -agonisty, co zostało również odnotowane w innych dostępnych badaniach¹¹⁰. Hipowentylację odzwierciedlają również pomiary stężenia dwutlenku węgla w wydychanym powietrzu, które w grupie TZ początkowo uzyskiwały wartości wykraczające nieznacznie poza wartości prawidłowe, jednak w miarę upływu czasu i zwiększaniem się liczby oddechów, parametr ten powracał do normy.

Granholm i wsp.¹⁰¹ w swoim doświadczeniu zastosowali taką samą dawkę deksmedetomidyny u psów i wykazali, że przez pierwsze 30 minut po podaniu domięśniowym zmniejsza ona częstotliwość rytmu serca, która następnie utrzymywana jest na podobnym poziomie przez kolejne 60 minut. Tłumaczy to tendencję spadkową tego parametru w obu grupach. Dodatkowo, warto zauważyć, że w badaniach Congdon i wsp.¹¹¹ na psach również użyto deksmedetomidyny, jednak w zdecydowanie niższej dawce, co skutkowało zmniejszeniem się częstotliwości rytmu serca jedynie przez pierwsze 15 minut po podaniu jej drogą domięśniową. W grupie badanej wartości tego parametru, mimo zachowanej tendencji spadkowej w pierwszych 30 minutach doświadczenia, były zdecydowanie wyższe niż w grupie kontrolnej, co może być spowodowane działaniem tyletaminy.

Dodatkowo, warto zauważyć wysokie wartości ciśnienia tętniczego krwi, zarówno średniego, skurczowego, jak i rozkurczowego w grupie TZ pomimo zastosowania bardzo

niskich dawek tego leku. Wyniki mieszczą się w górnej granicy normy, jednakże producenci leku w przeciwwskazaniach wskazują pacjentów okulistycznych, po urazach głowy lub cierpiących na nadciśnienie. W literaturze wahania ciśnienia tętniczego krwi po zastosowaniu dożylnym TZ opisywane są u psów i kotów jako dwufazowy spadek ciśnienia tętniczego krwi z postępującym wzrostem^{43,44}. Efekt ten może być podobny, jak przy użyciu ketaminy, która wywołuje depresyjny wpływ na nerw błędny^{24,112}.

Podczas całej procedury pacjenci byli stabilni hemodynamicznie i oddechowo. Pomimo różnic między grupą badaną a kontrolną w monitorowanych parametrach, nie odnotowano żadnych efektów ubocznych podczas znieczulenia ogólnego tyletaminą z zolazepamem podczas całej procedury chirurgicznej.

W każdej grupie przeprowadzany został zabieg ortopedyczny TTA (ang. Tibial Tuberosity Advancement). Decyzja o wyborze danego typu zabiegu została podjęta na podstawie stopnia bolesności i długości procedury, która wynosi 35-60 minut. Jest to procedura chirurgiczna polegająca na zmianie kąta nachylenia powierzchni stawowej kości piszczelowej kończyny miednicznej poprzez jej nacięcie. Wysoki stopień bolesności zabiegu pozwolił na wiarygodną ocenę analgezji protokołu anestezyjologicznego, a jego długość na wykazanie ewentualnej kumulacji leków podawanych we wlewie ciągłym dożylnym (CRI). Żaden z pacjentów podczas trwania etapu II nie wykazywał objawów bólowych ani efektów niepożądanych po podaniu TZ w CRI.

Dodatkowo, porównano do siebie parametry hemodynamiczne pacjentów z etapu I oraz pacjentów z grupy TZ etapu II niniejszego doświadczenia. W etapie I, po podaniu TZ w formie jednorazowego bolusa, częstotliwość rytmu serca obniżyła się znacząco w pierwszych 16

minutach, podczas gdy w grupie TZ z etapu II obniżenie tego parametru nie było tak wyraźne. Może być to wynikiem zastosowania 10-krotnie niższej dawki indukcyjnej TZ u pacjentów z grupy badanej z etapu II. W dalszym czasie trwania doświadczenia w obu grupach parametr ten utrzymywał się na podobnym poziomie, co z kolei może wskazywać, że w grupie badanej z etapu II podawane we wlewie ciągłym tyletamina-zolazepam nie kumulowały się. Warto również zauważyć, że podanie niższej dawki TZ w indukcji znieczulenia ogólnego, a następnie jego wlew dożylny spowodowały utrzymanie średniego tętniczego ciśnienia krwi na podobnym poziomie przez cały czas trwania zabiegu. U pacjentów z etapu I wartości tego parametru przez pierwsze 18 minut doświadczenia obniżały się, co potwierdzałyby badania przeprowadzone przez Hampton i wsp.⁴⁸.

Etap III niniejszego badania obejmował ocenę wybudzenia pacjentów po zastosowaniu tyletaminy i zolazepamu w indukcji oraz podtrzymania znieczulenia ogólnego we wlewie ciągłym dożylnym. W dostępnej literaturze autorzy opisują okres wybudzenia pacjentów po zastosowaniu indukcji znieczulenia ogólnego tyletaminą i zolazepamem oraz jego podtrzymanie gazem anestetycznym. Pablo i wsp.⁵⁰ w swoich badaniach ocenili, że zastosowanie bolusów z TZ w celu podtrzymania znieczulenia ogólnego u psów powodowało pogorszenie okresu wybudzeniowego pacjentów. U koni i kotów również zaobserwowano pogorszenie tego etapu, jak i jego wydłużenie^{107,113}. Hampton i wsp.⁴⁸ porównują w swoim doświadczeniu 4 różne rodzaje indukcji znieczulenia ogólnego: tyletaminę-zolazepam, alfaksalon, ketaminę-diazepam oraz propofol. Określają okres wybudzeniowy po zastosowaniu TZ jako ogólnie bezproblemowy, jednak z pojawiającymi się efektami ubocznymi, takimi jak: ruchy wiosłowe, dodatkowe ruchy kończyn czy epizody podniecenia. Wszyscy pacjenci w tym badaniu uzyskali pełne wybudzenie w około 2 godziny. Dodatkowo, wskazują, że pacjenci, u których zastosowano tyletaminę-zolazepam oraz ketaminę-diazepam zostali ocenieni w okresie

wybudzania zdecydowanie gorzej niż inne grupy⁴⁸. W innych badaniach również zaobserwowano wystąpienie efektów ubocznych takich jak: potrząsanie głową i wysuwanie języka, co jednoznacznie oceniono jako efekt końcowego działania tyletaminy⁹⁵. Pablo i wsp.⁵⁰ zasugerowali, że przy długotrwałych zabiegach chirurgicznych, po wykorzystaniu TZ do indukcji znieczulenia ogólnego, warto zastosować anestezję wziewną w celu podtrzymania znieczulenia ogólnego i jednocześnie poprawy jakości wybudzenia pacjentów.

W niniejszym badaniu wykorzystano dwie różne skale oceniające poziom i jakość sedacji oraz ból u pacjentów. Pierwsza skala to Sedation Level in dogs dostosowana do wykorzystania nawet przez niewykwalifikowane osoby^{114,115}. Oceniono w niej różne cechy pacjentów, pozwalając na najbardziej obiektywną ocenę jakości oraz poziomu sedacji. W większości parametrów wyniki grupy badanej były zbliżone do wyników grupy kontrolnej. Postawa stojąca oceniana była w obu grupach jako prawidłowa, nawet przy lekkich trudnościach, z uwagi na wcześniejsze podanie znieczulenia zewnątrzoponowego, które mogło utrudniać pacjentom uzyskiwanie pozycji stojącej. Pacjenci z grupy P szybciej powracali do postawy stojącej niż ci z grupy TZ, co obrazuje zdecydowanie krótszy czas uzyskania zarówno pozycji mostkowej, jak i stojącej. Podobnie, pojawienie się oporu przy zmianie pozycji szybciej wykazywały psy z grupy kontrolnej, jednak mimo to ogólny wygląd oceniany był w obu grupach na podobnym poziomie przez cały okres wybudzenia. Dodatkowo, warto zauważyć, że odruch powiekowy oraz reakcja na dźwięk klikera oceniane były lepiej w grupie TZ. Pojawienie się ruchów wiosłowych, mimowolnych ruchów mięśni, nadmiernego ślinienia oraz halucynacji można uznać za efekt ustępowania znieczulenia dysocjacyjnego. Również w ocenie bólu w skali Glasgow Composite Pain Scale-Short Form pacjenci w grupie TZ mogli uzyskiwać mniej korzystniejsze wyniki w kolejnych punktach czasowych właśnie z uwagi na wyżej wymienione efekty uboczne. Wybudzenie psów z grupy kontrolnej w ogólnej ocenie przebiegało szybciej i łagodniej niż w grupie badanej. Mimo tych różnic do 2 godzin po

zakończeniu znieczulenia ogólnego wszyscy pacjenci powrócili do swoich właścicieli nie wykazując już efektów wpływu znieczulenia. Ogólna ocena okresu wybudzenia jest podobna do oceny innych autorów, którzy wykorzystali tyletaminę i zolazepam w zdecydowanie większych dawkach jedynie do indukcji znieczulenia ogólnego^{44,48,93,95}. Jednakże ostatnie doniesienia, mówiące o wykorzystaniu TZ w dawkach wyższych zarówno do indukcji oraz wlewu ciągłego z podtrzymaniem znieczulenia ogólnego gazami anestetycznymi, oceniają okres wybudzania pacjentów, jako łagodny, bezproblemowy i bez epizodów efektów ubocznych¹⁰⁸. Możliwe, że różnica w wynikach nie jest podyktowana wpływem deksmedetomidyny, jak to oceniają autorzy tych badań, a jednak zastosowaniem małych ilości gazu anestetycznego, co sugerował Pablo i wsp.⁵⁰. Dla poprawy komfortu pacjentów, którzy otrzymali tyletaminę i zolazepam, warto, aby pomieszczenie, do którego są oni przenoszeni było zaciemnione oraz ciche. Warunki takie nie będą wzmacniać intensywności halucynacji¹¹⁶.

Każdy z etapów niniejszego badania wnosi cenne informacje do świata anestezjologii weterynaryjnej, jak również przyczynia się do „zazieleniania” sal operacyjnych. Propozycja rezygnacji z korzystania z gazów inhalacyjnych i opieranie protokołów anestezjologicznych na zasadach TIVA okazuje się efektywnym i bezpiecznym wyborem podyktowanym zarówno dobrem pacjentów, jak i środowiska.

12. Wnioski

1. Zastosowanie indukcji znieczulenia ogólnego mieszaniną tyletamina-zolazepam w dawce 5 mg/kg m.c. nie wymaga podtrzymania znieczulenia za pomocą izofluranu podczas krótkich i małoinwazyjnych procedur ambulatoryjno - chirurgicznych u psów.
2. Zastosowanie mieszaniny tyletamina-zolazepam do indukcji znieczulenia ogólnego w dawce 0,5 mg/kg m.c. prowadzi do zniesienia świadomości oraz odruchu gardłowego, umożliwiając bezproblemową intubację pacjentów.
3. Zastosowanie protokołu TIVA z indukcją niską dawką (0,5 mg/kg m.c.) tyletaminy z zolazepamem oraz podtrzymanie znieczulenia ogólnego tą mieszaniną w ciągłym wlewie dożylnym zapewnia jego stabilny poziom z jednoczesnym zachowaniem w granicach wartości referencyjnych parametrów: sercowo-naczyniowych, wentylacyjnych i temperatury wewnętrznej ciała.
4. Zastosowanie protokołu TIVA wykorzystującego mieszaninę tyletamina-zolazepam zapewnia odpowiedni poziom analgezji podczas wybudzania pacjentów. Okres wybudzania jest jednak dłuższy i mniej stabilny niż w grupie kontrolnej.
5. Oceniany protokół anestezyjologiczny oparty na zasadach TIVA jest przydatny do zabiegów ortopedycznych w obrębie kończyn miednicznych.

6. Zastosowanie protokołu TIVA z mieszaniną tyletaminy-zolazepamu jako alternatywy dla znieczulenia inhalacyjnego, umożliwi ograniczenie emisji szkodliwych czynników środowiskowych.

13. Streszczenie

W niniejszej dysertacji oceniono protokoły znieczulenia zbilansowanego u psów z wykorzystaniem niskich dawek tyletaminy i zolazepamu. Całe badanie naukowe zostało podzielone na trzy etapy.

W pierwszym etapie badań własnych wykorzystano 12 psów. Stosując metodę Up-and-Down Dixona zbadano konieczność użycia izofluranu u psów przy dożylniej indukcji znieczulenia tyletaminą i zolazepamem w dawce 5 mg/kg m.c. Zwierzęta poddane były stymulacji bodźcem bólowym (nacisk na opuszkę palca, paliczek, okolice pachwiny i zaciskanie kleszczyków Backhaus na skórze), a podczas całej procedury monitorowano parametry sercowo-naczyniowe i oddechowe (częstotliwość rytmu serca (HR), liczba oddechów (RR), ciśnienie tętnicze krwi (BP), saturację (SpO₂), temperaturę wewnętrzną ciała (T), CO₂ końcowo-wydechowy (ET-CO₂), izofluran końcowo-wydechowy (ET-ISO)).

W drugim etapie niniejszej pracy wykorzystano 20 psów. Pacjentów losowo podzielono na dwie grupy po 10 osobników (grupa badana – TZ oraz grupa kontrolna P). W grupie TZ do indukcji i podtrzymania znieczulenia ogólnego wykorzystano mieszaninę tyletaminy i zolazepamu. Do indukcji zastosowano ten lek w dawce 0,5 mg/kg m.c. w formie bolusa dożylnego, a następnie jako wlew ciągły dożylny do podtrzymania znieczulenia w dawce 1 mg/kg/h. Wyniki zostały zestawione ze standardowym protokołem anestezyjologicznym wykorzystującym do indukcji oraz podtrzymania znieczulenia propofol. Pacjenci w obu grupach poddani byli zabiegom ortopedycznym na kończynach miednicznych TTA (ang. Tibial Tuberosity Advancement). Podczas całej procedury rejestrowano parametry sercowo-naczyniowe i oddechowe (częstotliwość rytmu serca (HR), liczba oddechów (RR), ciśnienie

tętnicze krwi (BP), saturację (SpO₂), temperaturę wewnętrzną ciała (T), CO₂ końcowo-wydechowy (ET-CO₂), izofluran końcowo-wydechowy (ET-ISO)).

Trzeci etap poniższej rozprawy doktorskiej obejmował ocenę wpływu tyletaminy i zolazepamu na jakość i czas wybudzenia pacjentów z jednoczesną analizą poziomu sedacji. W tym celu wykorzystano pacjentów biorących udział w etapie drugim tego badania. Do oceny posłużyły odpowiednie skale: stopień sedacji analizowano poprzez Sedation Assessment and Sedation Level (SASL), a do oceny bólu pacjentów wykorzystano skali Glasgow (Short form of the Glasgow Composite Measure Pain Scale (CMPS-SF)). Dodatkowo, zmierzono i przeanalizowano czas między zakończeniem znieczulenia ogólnego a: ekstubacją, uzyskaniem pozycji mostkowej, próbą uzyskania pozycji stojącej oraz czas pojawienia się dodatkowych efektów ubocznych.

Wyniki etapu pierwszego wykazały, że zastosowanie indukcji znieczulenia ogólnego mieszaniną tyletamina-zolazepam w dawce 5 mg/kg m.c. nie wymaga podtrzymania znieczulenia za pomocą izofluranu podczas krótkich i małoinwazyjnych procedur ambulatoryjnie - chirurgicznych u psów. W celu uwiarygodnienia wyników badań wykonano trzy „crossover” według metody Up-and-Down Dixona. Dodatkowo, indukcja ta prowadzi do zniesienia świadomości oraz odruchu gardłowego, umożliwiając bezproblemową intubację pacjentów.

W etapie drugim autor niniejszej rozprawy wykazał, że zastosowanie protokołu TIVA z indukcją niską dawką (0,5 mg/kg m.c.) tyletaminy z zolazepamem oraz podtrzymanie znieczulenia ogólnego tą mieszaniną w ciągłym wlewie dożylnym zapewnia jego stabilny poziom z jednoczesnym zachowaniem w granicach wartości referencyjnych parametrów:

sercowo-naczyniowych, wentylacyjnych i temperatury wewnętrznej ciała. Liczba oddechów na minutę początkowo utrzymywała się na niskim poziomie, zwiększając się wraz z upływem czasu, jednak była wystarczająca, aby utrzymać stężenie wydychanego dwutlenku węgla w granicach normy. Częstotliwość rytmu serca na minutę w grupie TZ obniżała się przez pierwsze 20 minut zabiegu, a następnie utrzymywała się na podobnym poziomie przez kolejne 20 minut, aby następnie obniżyć się przez ostatnie 10 minut zabiegu. Mimo tych wahań w porównaniu do grupy P częstotliwość rytmu serca przez cały okres znieczulenia utrzymywana była i tak na wyższym poziomie. Ciśnienie tętnicze krwi w grupie TZ podczas całej procedury utrzymywało się na wyższym poziomie niż w grupie P. Temperatura wewnętrzna ciała obniżała się w obu grupach, jednak wyższa przez prawie całą procedurę utrzymywała się w grupie TZ.

Etap trzeci skupiający się na ocenie poanestetycznej pacjentów przebiegał w obu grupach na podobnym dobrym poziomie. Zastosowanie protokołu TIVA wykorzystującego mieszaninę tyletamina-zolazepam zapewnił odpowiedni poziom analgezji podczas wybudzania pacjentów. Po 2 godzinach od zakończenia znieczulenia ogólnego wszyscy pacjenci z obu grup byli wybudzeni oraz uzyskali pozycję stojącą. Żaden z pacjentów nie wykazywał silnych objawów bólowych, które wymagałyby podania analgezji ratunkowej. W grupie badanej okres wybudzania jest jednak dłuższy i mniej stabilny niż w grupie kontrolnej.

Reasumując, powyższe wieloetapowe badania wykorzystujące tyletaminę i zolazepam, zarówno w samej indukcji, jak i w indukcji oraz podtrzymaniu znieczulenia, bez użycia gazów anestetycznych, zapewnia stabilne warunki śródzabiegowe. Pacjenci wykazywali prawidłowy poziom znieczulenia oraz stabilne parametry podczas zabiegu. Okres poanestetyczny oceniono jako dobry, pomimo wystąpienia objawów mimowolnych. Oceniany protokół w etapie I może być przydatny do małoinwazyjnych procedur ambulatoryjno-chirurgicznych. Natomiast

protokół oceniany w etapie II może być przydatny do długich i inwazyjnych procedur ortopedycznych w obrębie kończyn miednicznych. Całość badań wykazała, że do utrzymania stabilnego znieczulenia ogólnego zarówno przy procedurach ambulatoryjno-chirurgicznych, jak i bardziej inwazyjnych procedurach ortopedycznych jest możliwe bez zastosowania gazów anestetycznych. Dodatkowo, zastosowanie protokołu TIVA z mieszaniną tyletamin-yzolazepamu stanowi alternatywę dla znieczulenia inhalacyjnego, co umożliwi ograniczenie emisji szkodliwych czynników środowiskowych.

14. Abstract

This dissertation evaluates the protocols of balanced anaesthesia in dogs using low doses of tiletamine and zolazepam. The entire research study was divided into three stages.

In the first stage of research 12 dogs were scheduled for the experimental procedure. The Dixon's Up-and-Down method was used to establish the necessity of using isoflurane in dogs induced intravenously with tiletamine and zolazepam at a dose of 5 mg/kg body weight. The patients were stimulated with a noxious stimulus (pressure on the footpad, phalanx, groin area and clamping of the Backhaus on the skin), and throughout the experiment haemodynamic and respiratory parameters were measured (heart rate (HR), respiratory rate (RR), non-invasive blood pressure (BP), saturation (SpO₂), temperature (T), end-tidal CO₂ (ET-CO₂), end-tidal isoflurane (ET-ISO)).

In the second stage of this study, 20 dogs were scheduled for the experimental procedure. The patients were randomly divided into two groups of 10 animals in each (study group - TZ and control group P). In the TZ group, a mixture of tiletamine and zolazepam was used to induce and maintain general anaesthesia. These medicines were used for induction at a dose of 0.5 mg / kg as an intravenous bolus, followed by a continuous intravenous infusion to maintain anaesthesia at a dose of 1 mg / kg / h. The results were compared with a standard anaesthetic protocol using propofol for induction and maintenance of anaesthesia. Patients in both groups underwent orthopedic surgery on pelvic limbs - TTA (Tibial Tuberosity Advancement). throughout the experiment haemodynamic and ventilation parameters were measured (heart rate (HR), respiratory rate (RR), non-invasive blood pressure (BP), saturation (SpO₂), temperature (T), end-tidal CO₂ (ET-CO₂), end-tidal isoflurane (ET-ISO)).

The third stage of the experiment included the assessment of the influence of tiletamine and zolazepam on the quality and time of recovery period in patients with a simultaneous analysis of the level of sedation. For this purpose, patients participating in the second stage of this study were used. Appropriate scales were used for the assessment: the level of sedation was analyzed by the Sedation Assessment and Sedation Level (SASL), and the patients' pain was assessed using the Glasgow Composite Measure Pain Scale (CMPS-SF). In addition, the time between the end of general anaesthesia and extubation, sternal positioning, attempting to obtain a standing position, and the time of onset of additional side effects were measured and analyzed.

The results of the first stage revealed that the induction of general anaesthesia with the mixture of tiletamine-zolazepam at a dose of 5 mg / kg does not require maintenance of anaesthesia with isoflurane during short and minimally invasive outpatient-surgical procedures in dogs. In order to validate the test results, three "crossovers" were made according to Dixon's Up-and-Down method. In addition, this induction leads to suppression of consciousness and the pharyngeal reflex, allowing for non-problematic intubation of patients.

In the second stage, the author showed that the application of the TIVA protocol with the induction of a low dose (0.5 mg/kg) of tiletamine with zolazepam and the maintenance of general anaesthesia with this mixture in continuous intravenous infusion ensures its stable level while maintaining the reference parameters within the limits: cardiovascular, ventilation and internal body temperature. The respiratory rate initially remained low, increasing over time, but was sufficient to keep the end-tidal CO₂ concentration within normal limits. The heart rate in the TZ group decreased for the first 20 minutes of the procedure, then remained at a similar level for the next 20 minutes, and then decreased for the last 10 minutes of the procedure. Compared to the P group, the heart rate was maintained at a higher level throughout the duration

of anaesthesia, despite these fluctuations. Blood pressure in the TZ group was higher throughout the procedure than in the P group. The body temperature decreased in both groups, but was higher throughout the entire procedure in the TZ group.

The third stage, focusing on the post-anaesthetic and recovery evaluation of the patients, was similar and on a good level in both groups. The use of the TIVA protocol using the tiletamine-zolazepam mixture ensured an adequate level of analgesia during recovery of patients. Two hours after the end of general anaesthesia, all patients from both groups were conscious and were able to stand. None of the patients showed severe pain symptoms that would require rescue analgesia. In the study group, however, the recovery period is longer and less stable than in the control group.

To sum up, the above multi-stage studies using tiletamine and zolazepam, both in the induction itself, as well as in induction and maintenance of anaesthesia, without the use of anaesthetic gases, ensure stable intraoperative conditions. Patients showed appropriate level of anaesthesia and stable parameters during the procedure. The post-anaesthetic period was assessed as good, despite the occurrence of involuntary symptoms. The evaluated protocol in stage I may be useful for minimally invasive outpatient-surgical procedures. In contrast, the protocol assessed in stage II may be useful for long and invasive orthopedic procedures in the pelvic limbs. The entirety of the research has shown that it is possible to maintain stable general anaesthesia both in outpatient and surgical procedures and in more invasive orthopedic procedures without the use of anesthetic gases. In addition, the use of the TIVA protocol with a mixture of tiletamine-zolazepam is an alternative to inhalation anaesthesia, which will reduce the emission of harmful environmental factors.

15. Piśmiennictwo

1. Holmer, H. *et al.* Evaluating the collection, comparability and findings of six global surgery indicators. *Br J Surg* 106, e138–e150 (2019).
2. Waste anesthetic gases - occupational hazards in hospitals. <https://www.cdc.gov/niosh/docs/2007-151/> (2007) doi:10.26616/NIOSH PUB2007151.
3. Boiano, J. M. & Steege, A. L. Precautionary practices for administering anesthetic gases: A survey of physician anesthesiologists, nurse anesthetists and anesthesiologist assistants. *J Occup Environ Hyg* 13, 782–793 (2016).
4. Joubert, K. E. Computer simulations of propofol infusions for total intravenous anaesthesia in dogs: review article. *Journal of the South African Veterinary Association* 80, 2–9 (2009).
5. Sherman, J., Le, C., Lamers, V. & Eckelman, M. Life cycle greenhouse gas emissions of anesthetic drugs. *Anesth Analg* 114, 1086–1090 (2012).
6. Irwin, M. G., Trinh, T. & Yao, C.-L. Occupational exposure to anaesthetic gases: a role for TIVA. *Expert Opin Drug Saf* 8, 473–483 (2009).
7. Petre, M.-A. & Malherbe, S. Environmentally sustainable perioperative medicine: simple strategies for anesthetic practice. *Can J Anaesth* 67, 1044–1063 (2020).
8. Wyssusek, K. H., Keys, M. T. & van Zundert, A. A. J. Operating room greening initiatives - the old, the new, and the way forward: A narrative review. *Waste Manag Res* 37, 3–19 (2019).
9. Varughese, S. & Ahmed, R. Environmental and Occupational Considerations of Anesthesia: A Narrative Review and Update. *Anesth Analg* 133, 826–835 (2021).
10. Caycedo-Marulanda, A. & Mathur, S. Suggested strategies to reduce the carbon footprint of anesthetic gases in the operating room. *Can J Anesth/J Can Anesth* 69, 269–270 (2022).

11. World Health Organization. COP24 Special Report Health & Climate Change. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/276405/9786057496713-tur.pdf> (2018).
12. Gadani, H. & Vyas, A. Anesthetic gases and global warming: Potentials, prevention and future of anesthesia. *Anesth Essays Res* 5, 5 (2011).
13. Vollmer, M. K. *et al.* Modern inhalation anesthetics: Potent greenhouse gases in the global atmosphere. *Geophysical Research Letters* 42, 1606–1611 (2015).
14. Sulbaek Andersen, M. P., Nielsen, O. J., Karpichev, B., Wallington, T. J. & Sander, S. P. Atmospheric chemistry of isoflurane, desflurane, and sevoflurane: kinetics and mechanisms of reactions with chlorine atoms and OH radicals and global warming potentials. *J Phys Chem A* 116, 5806–5820 (2012).
15. Ravishankara, A. R., Daniel, J. S. & Portmann, R. W. Nitrous Oxide (N₂O): The Dominant Ozone-Depleting Substance Emitted in the 21st Century. *Science* 326, 123–125 (2009).
16. Ryan, S. M. & Nielsen, C. J. Global warming potential of inhaled anesthetics: application to clinical use. *Anesth Analg* 111, 92–98 (2010).
17. MacNeill, A. J., Lillywhite, R. & Brown, C. J. The impact of surgery on global climate: a carbon footprinting study of operating theatres in three health systems. *Lancet Planet Health* 1, e381–e388 (2017).
18. American Society of Anesthesiologists. Task Force on Environmental Sustainability Committee on Equipment and Facilities. Greening the Operating Room and Perioperative Arena: Environmental Sustainability for Anesthesia Practice. <https://www.asahq.org/about-asa/governance-and-committees/asa-committees/committee-on-equipment-and-facilities/environmental-sustainability/greening-the-operating-room#intro> (2014).

19. McGain, F., Story, D., Kayak, E., Kashima, Y. & McAlister, S. Workplace Sustainability: The “Cradle to Grave” View of What We Do. *Anesthesia & Analgesia* 114, 1134–1139 (2012).
20. Davies, T. V. S. Low Flow Anaesthesia: Frequently Asked Questions. (2020).
21. Figueiredo, D. *et al.* High anesthetic (isoflurane) indoor pollution is associated with genetic instability, cytotoxicity, and proliferative alterations in professionals working in a veterinary hospital. *Environmental Science and Pollution Research* (2022) doi:10.1007/s11356-022-20444-2.
22. Criteria for a recommended standard: occupational exposure to waste anesthetic gases and vapors. <https://www.cdc.gov/niosh/docs/77-140/default.html> (2020) doi:10.26616/NIOSH PUB77140.
23. Soma, L. R. *Textbook of Veterinary Anesthesia*. (Williams & Wilkins, 1971).
24. Wright, M. Pharmacologic effects of ketamine and its use in veterinary medicine. *J Am Vet Med Assoc* 180, 1462–1471 (1982).
25. Wilson, R. P., Zagon, I. S., Larach, D. R. & Lang, C. M. Antinociceptive properties of tiletamine-zolazepam improved by addition of xylazine or butorphanol. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 43, 1129–1133 (1992).
26. Brandstetter, R. D. Book Reviews : Intravenous Anesthesia and Analgesia G. Corssen, J. G. Reves, and T. H. Stanley Philadelphia, Lea & Febiger, 1987: 334 pp, illustrated, \$48.50. *J Intensive Care Med* 3, 189–189 (1988).
27. Reves, J. G. & Glass, P. S. A. *Miller, R. D., ed. Anesthesia*. (Churchill Livingstone, 1990).
28. Winters, W. D. *et al.* The cataleptic state induced by ketamine: a review of the neuropharmacology of anesthesia. *Neuropharmacology*, 1972, 11,303-315.
29. Möhler, H., Fritschy, J. M. & Rudolph, U. A New Benzodiazepine Pharmacology. *J Pharmacol Exp Ther* 300, 2–8 (2002).

30. Bree, M. m. Dissociative Anesthesia in *Macaca mulatta* Clinical Evaluation of CI 744. *Journal of Medical Primatology* 1, 256–260 (1972).
31. Popilskis, S., Oz, M., Gorman, P., Florestal, A. & Kohn, D. Comparison of xylazine with tiletamine-zolazepam (Telazol) and xylazine-ketamine anesthesia in rabbits. *Laboratory animal science* (1991).
32. Ferrari, L. *et al.* Evaluation of Two Combinations of Domitor, Zoletil 100, and Euthatal to Obtain Long-term Nonrecovery Anesthesia in Sprague-Dawley Rats. *Comparative Medicine* 55, 9 (2005).
33. Lin, H. C., Thurmon, J. C., Benson, G. J. & Tranquilli, W. J. Telazol--a review of its pharmacology and use in veterinary medicine. *J Vet Pharmacol Ther* 16, 383–418 (1993).
34. Hrapkiewicz, K. L., Stein, S. & Smiler, K. L. A new anesthetic agent for use in the gerbil. *Lab Anim Sci* 39, 338–341 (1989).
35. Payton, A. & Pick, J. R. Evaluation of a combination of tiletamine and zolazepam as an anesthetic for ferrets. *Laboratory animal science* (1989).
36. Borchard, R. E., Barnes, C. D., Eltherington, L. G. & Barnes, C. D. *Drug dosage in laboratory animals: a handbook.* (Telford Press, 1990).
37. Kreeger, T. J., Seal, U. S., Callahan, M. & Beckel, M. Physiological and behavioral responses of gray wolves (*Canis lupus*) to immobilization with tiletamine and zolazepam. *J Wildl Dis* 26, 90–94 (1990).
38. Kreeger, T. J., Seal, U. S. & Tester, J. R. Chemical immobilization of red foxes (*Vulpes vulpes*). *J Wildl Dis* 26, 95–98 (1990).
39. Barasona, J. A., López-Olvera, J. R., Beltrán-Beck, B., Gortázar, C. & Vicente, J. Trap-effectiveness and response to tiletamine-zolazepam and medetomidine anaesthesia in Eurasian wild boar captured with cage and corral traps. *BMC Veterinary Research* 9, 107 (2013).

40. Karasu, A., Altug, N., Aslan, L., Bakir, B. & Yuksek, N. Evaluation of the anesthetic effects of xylazine-ketamine, xylazine-tiletamine-zolazepam and tiletamine-zolazepam using clinical and laboratory parameters in rabbits. *Medycyna Weterynaryjna* 74, 646–652 (2018).
41. Khokhlova, O. N. *et al.* Comparative Study of the Aftereffect of CO₂ Inhalation or Tiletamine–Zolazepam–Xylazine Anesthesia on Laboratory Outbred Rats and Mice. *Biomedicines* 10, 512 (2022).
42. Short, C. E. *Principles and practice of veterinary anesthesia.* (Williams & Wilkins, 1987).
43. Hellyer, P., Muir, W. W., Hubbell, J. A. & Sally, J. Cardiorespiratory effects of the intravenous administration of tiletamine-zolazepam to cats. *Vet Surg* 17, 105–110 (1988).
44. Hellyer, P., Muir, W. W., Hubbell, J. A. & Sally, J. Cardiorespiratory Effects of the Intravenous Administration of Tiletamine-Zolazepam to Dogs. *Veterinary Surgery* 18, 160–165 (1989).
45. Steffey, E. P. & Howland, D. Isoflurane potency in the dog and cat. *Am J Vet Res* 38, 1833–1836 (1977).
46. Donaldson, L., McGrath, C. & Tracy, C. Testing low-doses of intravenous telazol in canine practice. *Veterinary medicine* 84 1202–1207 (1989).
47. Savvas, I., Plevraki, K., Raptopoulos, D. & Koutinas, A. F. Blood gas and acid–base status during tiletamine/zolazepam anaesthesia in dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 32, 94–100 (2005).
48. Hampton, C. E. *et al.* Effects of intravenous administration of tiletamine-zolazepam, alfaxalone, ketamine-diazepam, and propofol for induction of anesthesia on cardiorespiratory and metabolic variables in healthy dogs before and during anesthesia maintained with isoflurane. *American Journal of Veterinary Research* 80, 33–44 (2019).

49. Maddison, J. E., Page, S. W. & Church, D. B. *Small animal clinical pharmacology*. (Saunders, Elsevier, 2008).
50. Pablo, L. S. & Bailey, J. E. Etomidate and telazol. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 29, 779–792 (1999).
51. van Foreest, A. W. The application of tiletamine/zolazepam (Zoletil) anesthesia in dental treatments in dogs. *Tijdschr Diergeneeskd* 116, 1063–1066 (1991).
52. Psatha, E., Alibhai, H. I. K., Jimenez-Lozano, A., Armitage-Chan, E. & Brodbelt, D. C. Clinical efficacy and cardiorespiratory effects of alfaxalone, or diazepam/fentanyl for induction of anaesthesia in dogs that are a poor anaesthetic risk. *Vet Anaesth Analg* 38, 24–36 (2011).
53. Tzannes, S. *et al.* The use of sevoflurane in a 2:1 mixture of nitrous oxide and oxygen for rapid mask induction of anaesthesia in the cat. *J Feline Med Surg* 2, 83–90 (2000).
54. Eger, E. I. Characteristics of anesthetic agents used for induction and maintenance of general anesthesia. *Am J Health Syst Pharm* 61 Suppl 4, S3-10 (2004).
55. McEvoy, G. K. *AHFS Drug Information*. (Bethesda, MD: American Society of Health-System Pharmacists, 2004).
56. Waelbers, T., Vermoere, P. & Polis, I. Total intravenous anesthesia in dogs. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 10 (2009).
57. Thurmon, J. C. & Short, C. History and overview of veterinary anesthesia. *Lumb and Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia* 3–6 (2007).
58. Kästner, S. B. R. *Intravenous anaesthetics*. In: Seymour C., Duke-Novakovski T. (editors). *BSAVA Manual of Canine and Feline Anaesthesia and Analgesia*. (British Small Animal Veterinary Association, 2007).
59. Dixon, W. J. Staircase bioassay: The up-and-down method. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 15, 47–50 (1991).

60. Dixon, W. J. The Up-and-Down Method for Small Samples. *Journal of the American Statistical Association* 60, 967–978 (1965).
61. Monteiro, E. R., Coelho, K., Bressan, T. F., Simões, C. R. & Monteiro, B. S. Effects of acepromazine-morphine and acepromazine-methadone premedication on the minimum alveolar concentration of isoflurane in dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 43, 27–34 (2016).
62. Aguado, D., Benito, J. & Gómez de Segura, I. A. Reduction of the minimum alveolar concentration of isoflurane in dogs using a constant rate of infusion of lidocaine–ketamine in combination with either morphine or fentanyl. *The Veterinary Journal* 189, 63–66 (2011).
63. Sonner, J. M. Issues in the design and interpretation of minimum alveolar anesthetic concentration (MAC) studies. *Anesth Analg* 95, 609–614, table of contents (2002).
64. Flecknell, P. *et al.* Preanesthesia, Anesthesia, Analgesia, and Euthanasia. in *Laboratory Animal Medicine* 1135–1200 (Elsevier, 2015). doi:10.1016/B978-0-12-409527-4.00024-9.
65. Grimm, K. A., Lamont, L. A., Tranquilli, W. J., Greene, S. A. & Robertson, S. A. *Veterinary Anesthesia and Analgesia*. (John Wiley & Sons, 2015).
66. Grimm, K. A., Tranquilli, W. J. & Lamont, L. A. *Essentials of Small Animal Anesthesia and Analgesia*. (John Wiley & Sons, 2011).
67. Valverde, A., Morey, T. E., Hernandez, J. & Davies, W. Validation of several types of noxious stimuli for use in determining the minimum alveolar concentration for inhalation anesthetics in dogs and rabbits. *American Journal of Veterinary Research* 64, 957–962 (2003).
68. Muir III, W. W., Wiese, A. J. & March, P. A. Effects of morphine, lidocaine, ketamine, and morphine-lidocaine-ketamine drug combination on minimum alveolar concentration

- in dogs anesthetized with isoflurane. *American Journal of Veterinary Research* 64, 1155–1160 (2003).
69. Lin, C.-M. *et al.* Sitting position does not alter minimum alveolar concentration for desflurane. *Can J Anesth/J Can Anesth* 54, 523–530 (2007).
 70. Wadhwa, A. & Sessler, D. I. Women Have the Same Desflurane Minimum Alveolar Concentration as Men. 99, 4 (2003).
 71. Campagnol, D., Neto, F. J. T., Giordano, T., Ferreira, T. H. & Monteiro, E. R. Effects of epidural administration of dexmedetomidine on the minimum alveolar concentration of isoflurane in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 68, 1308–1318 (2007).
 72. Weller, M. A general review of the environmental impact of health care, hospitals, operating rooms, and anesthetic care. *International Anesthesiology Clinics* Publish Ahead of Print, (2020).
 73. Hanna, M. & Bryson, G. L. A long way to go: minimizing the carbon footprint from anesthetic gases. *Can J Anesth/J Can Anesth* 66, 838–839 (2019).
 74. Andersen, M. P. S., Nielsen, O. J., Wallington, T. J., Karpichev, B. & Sander, S. P. Assessing the Impact on Global Climate from General Anesthetic Gases. *Anesthesia & Analgesia* 114, 1081–1085 (2012).
 75. Ishizawa, Y. General Anesthetic Gases and the Global Environment. *Anesthesia & Analgesia* 112, 213–217 (2011).
 76. Brown, A. C., Canosa-Mas, C. E., Parr, A. D., Pierce, J. M. T. & Wayne, R. P. Tropospheric lifetimes of halogenated anaesthetics. *Nature* 341, 635–637 (1989).
 77. Lucio, L. M. C., Braz, M. G., Nascimento Junior, P. do, Braz, J. R. C. & Braz, L. G. Occupational hazards, DNA damage, and oxidative stress on exposure to waste anesthetic gases. *Brazilian Journal of Anesthesiology (English Edition)* 68, 33–41 (2018).

78. Rauchenwald, V. *et al.* New Method of Destroying Waste Anesthetic Gases Using Gas-Phase Photochemistry. *Anesthesia & Analgesia* 131, 288–297 (2020).
79. Thiel, C. L. *et al.* Environmental Impacts of Surgical Procedures: Life Cycle Assessment of Hysterectomy in the United States. *Environ Sci Technol* 49, 1779–1786 (2015).
80. Özelsel, T. J.-P., Sondekoppam, R. V., Ip, V. H. Y. & Tsui, B. C. H. Re-defining the 3R's (reduce, refine, and replace) of sustainability to minimize the environmental impact of inhalational anesthetic agents. *Can J Anesth/J Can Anesth* 66, 249–254 (2019).
81. Mastrangelo, G., Comiati, V., dell'Aquila, M. & Zamprogno, E. Exposure to anesthetic gases and Parkinson's disease: a case report. *BMC Neurology* 13, 194 (2013).
82. Casale, T. *et al.* Anesthetic gases and occupationally exposed workers. *Environ Toxicol Pharmacol* 37, 267–274 (2014).
83. Sherman, J. D. & Barrick, B. Total Intravenous Anesthetic Versus Inhaled Anesthetic: Pick Your Poison. *Anesthesia & Analgesia* 128, 13–15 (2019).
84. Weil, A. B. & Baird, A. N. 18 - Anesthetic and pain management. in *Sheep, Goat, and Cervid Medicine (Third Edition)* (eds. Pugh, D. G., Baird, A. N., Edmondson, M. A. & Passler, T.) 461–478 (Elsevier, 2021). doi:10.1016/B978-0-323-62463-3.00027-X.
85. Paul, M. & Fisher, D. M. Are Estimates of MAC Reliable? *Anesthesiology* 95, 1362–1370 (2001).
86. Pattanapon, N., Bootcha, R. & Petchdee, S. The effects of anesthetic drug choice on heart rate variability in dogs. *J Adv Vet Anim Res* 5, 485 (2018).
87. Ratnu, D. A., Anjana, R. R., Parikh, P. V. & Kelawala, D. N. Effects of Tiletamine-Zolazepam and Isoflurane for Induction and Maintenance in Xylazine Premedicated Dogs. *2021* 3.

88. Malavasi, L. M. *et al.* Effects of extradural morphine on end-tidal isoflurane concentration and physiological variables in pigs undergoing abdominal surgery: a clinical study. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 33, 307–312 (2006).
89. Malavasi, L. M., Jensen-Waern, M., Augustsson, H. & Nyman, G. Changes in minimal alveolar concentration of isoflurane following treatment with medetomidine and tiletamine/zolazepam, epidural morphine or systemic buprenorphine in pigs. *Lab Anim* 42, 62–70 (2008).
90. Rampil, I. J. *et al.* Clinical characteristics of desflurane in surgical patients: minimum alveolar concentration. *Anesthesiology* 74, 429–433 (1991).
91. Scheller, M. S., Saidman, L. J. & Partridge, B. L. MAC of sevoflurane in humans and the New Zealand white rabbit. *Can J Anaesth* 35, 153–156 (1988).
92. Grimm, K. A., Tranquilli, W. J., Thurmon, J. C. & Benson, G. J. Duration of nonresponse to noxious stimulation after intramuscular administration of butorphanol, medetomidine, or a butorphanol-medetomidine combination during isoflurane administration in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 61, 42–47 (2000).
93. Krimins, R. A., Ko, J. C., Weil, A. B., Payton, M. E. & Constable, P. D. Hemodynamic effects in dogs after intramuscular administration of a combination of dexmedetomidine-butorphanol-tiletamine-zolazepam or dexmedetomidine-butorphanol-ketamine. *American Journal of Veterinary Research* 73, 1363–1370 (2012).
94. Nam, S.-W., Shin, B.-J. & Jeong, S. M. Anesthetic and Cardiopulmonary Effects of Butorphanol-Tiletamine-Zolazepam-Medetomidine and Tramadol-Tiletamine-Zolazepam-Medetomidine in Dogs. *2013* 7.
95. Ko, J. C. H., Payton, M., Weil, A. B., Kitao, T. & Haydon, T. Comparison of Anesthetic and Cardiorespiratory Effects of Tiletamine–Zolazepam–Butorphanol and Tiletamine–Zolazepam–Butorphanol– Medetomidine in Dogs. *Veterinary Therapeutics* 8, 14 (2007).

96. Hughes, J. M. L. Comparison of disposable circle and 'to-and-fro' breathing systems during anaesthesia in dogs. *Journal of Small Animal Practice* 39, 416–420 (1998).
97. Suttner, S. & Boldt, J. Low-Flow Anaesthesia: Does it have Potential Pharmacoeconomic Consequences? *Pharmacoeconomics* 17, 585–590 (2000).
98. Jones, R. S. & West, E. Environmental sustainability in veterinary anaesthesia. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 46, 409–420 (2019).
99. Feldman, J. M. Managing fresh gas flow to reduce environmental contamination. *Anesth Analg* 114, 1093–1101 (2012).
100. Pypendop, B. H. & Verstegen, J. P. Hemodynamic Effects of Medetomidine in the Dog: A Dose Titration Study. *Veterinary Surgery* 27, 612–622 (1998).
101. Granholm, M., McKusick, B. C., Westerholm, F. C. & Aspegrén, J. C. Evaluation of the clinical efficacy and safety of intramuscular and intravenous doses of dexmedetomidine and medetomidine in dogs and their reversal with atipamezole. *Veterinary Record* 160, 891–897 (2007).
102. Murrell, J. C. & Hellebrekers, L. J. Medetomidine and dexmedetomidine: a review of cardiovascular effects and antinociceptive properties in the dog. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 32, 117–127 (2005).
103. Ewing, K. K., Mohammed, H. O., Scarlett, J. M. & Short, C. E. Reduction of isoflurane anesthetic requirement by medetomidine and its restoration by atipamezole in dogs. *Am J Vet Res* 54, 294–299 (1993).
104. Doherty, T. J., Rohrbach, B. W., Ross, L. & Schultz, H. The effect of tiletamine and zolazepam on isoflurane minimum alveolar concentration in goats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 25, 233–235 (2002).

105. Mullet, J.-U., Karolak, S., Fontova, A. & Levi, Y. Modeling of hospital wastewater pollution by pharmaceuticals: first results of Mediflux study carried out in three French hospitals. *Water Science and Technology* 62, 2912–2919 (2010).
106. Mankes, R. F. Propofol wastage in anesthesia. *Anesth Analg* 114, 1091–1092 (2012).
107. Pereira, S. A. R. S. *et al.* Anesthetic quality and cardiovascular and respiratory effects of continuous intravenous infusion of tiletamine-zolazepam in bitches. *Pesq. Vet. Bras.* 39, 214–220 (2019).
108. Kucharski, P. *et al.* Clinical Usefulness of the Anaesthetic Protocol Using Low Doses of Tiletamine – Zolazepam Combination in Continuous Rate Infusion as a Partial Intravenous Anaesthesia in Bitches Undergoing Laparoscopic Surgery. *Topics in Companion Animal Medicine* 49, 100664 (2022).
109. Jang, H.-S., Kwon, Y.-S., Lee, M.-G. & Jang, K.-H. The Effect of Tiletamine/Zolazepam (Zoletile) Combination with Xylazine or Medetomidine on Electroencephalograms in Dogs. *J. Vet. Med. Sci.* 66, 501–507 (2004).
110. Kwon, Y.-S., Jeong, S. M. & Jang, K.-H. Comparison of Tiletamine/Zolazepam, Xylazine-Tiletamine/Zolazepam and Medetomidine-Tiletamine/Zolazepam Anesthesia in Dogs. *J Vet Clin* 33–41 (2003).
111. Congdon, J. M., Marquez, M., Niyom, S. & Boscan, P. Evaluation of the sedative and cardiovascular effects of intramuscular administration of dexmedetomidine with and without concurrent atropine administration in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 239, 81–89 (2011).
112. Millar, R. A. Proceedings: On the mechanism and occurrence of cardiovascular stimulation by ketamine. *Br J Anaesth* 48, 268–269 (1976).
113. Lôpez, M. *et al.* Tiletamine-Zolazepam anesthesia in horses: Repeated dose versus continuous infusion. *Revue de médecine vétérinaire* 155, 197–204 (2004).

114. Wagner, M. C., Hecker, K. G. & Pang, D. S. J. Sedation levels in dogs: a validation study. *BMC Vet Res* 13, 110 (2017).
115. Grint, N. J., Burford, J. & Dugdale, A. H. A. Does pethidine affect the cardiovascular and sedative effects of dexmedetomidine in dogs? *J Small Anim Pract* 50, 62–66 (2009).
116. Hughes, H. C. & Lang, C. M. Control of Pain in Dogs and Cats. in *Animal Pain: Perception and Alleviation* (eds. Kitchell, R. L. & Erickson, H. H.) 207–216 (Springer, 1983). doi:10.1007/978-1-4614-7562-0_12.

16. Spis tabel

Tabela 1 Formularz Oceny bólu u pacjenta w skali Glasgow (CMPS-SF)..... 54

Tabela 2 Formularz oceny poziomu sedacji i jakości wybudzenia pacjenta (SASL). 55

17. Spis rycin

Ryc. 1 Schemat doświadczenia 25

Ryc. 2 Wykres przedstawiający wyniki I etapu doświadczenia..... 27

Ryc. 3 Wykres przedstawia średnie wartości pomiaru częstotliwości rytmu serca. 28

Ryc. 4 Wykres przedstawia średnie wartości pomiaru liczby oddechów. 29

Ryc. 5 Wykres przedstawia średnie wartości pomiaru tętniczego ciśnienia skurczowego..... 30

Ryc. 6 Wykres przedstawia średnie wartości pomiaru tętniczego ciśnienia rozkurczowego .. 31

Ryc. 7 Wykres przedstawia średnie wartości pomiaru średniego ciśnienia tętniczego 32

Ryc. 8 Wykres przedstawia średnie wartości pomiaru końcowo wydechowego CO₂..... 33

Ryc. 9 Wykres przedstawia średnie wartości pomiaru temperatury 34

Ryc. 10 Czas mierzony od indukcji znieczulenia ogólnego do bezproblemowej intubacji. 40

Ryc. 11 Wykres średniej liczby oddechów na minutę w grupach TZ i P. 42

Ryc. 12 : Częstotliwość rytmu serca na minutę w grupach TZ i P. 43

Ryc. 13 Tętnicze ciśnienie skurczowe krwi w grupach TZ i P. 44

Ryc. 14 Tętnicze ciśnienie rozkurczowe krwi w grupach TZ i P 45

Ryc. 15 Średnie ciśnienie tętnicze krwi w grupach TZ i P 46

Ryc. 16 Stężenie dwutlenku węgla w wydychanym powietrzu w grupach TZ i P 48

Ryc. 17 Temperatura wewnętrzna ciała w grupach TZ i P 49

Ryc. 18 Saturacja krwi w grupach TZ i P 50

Ryc. 19 Wykres oceny postawy pacjentów w obu grupach w skali SASL..... 58

Ryc. 20 Wykres oceny odruchu powiekowego w obu grupach w skali SASL 59

Ryc. 21 Wykres oceny pozycji gałek ocznych w obu grupach w skali SASL.....	60
Ryc. 22 Wykres oceny reakcji pacjenta na dźwięk klikera w obu grupach w skali SASL.....	60
Ryc. 23 Wykres oceny oporu pacjenta przy zmianie pozycji z mostkowej na boczną.....	61
Ryc. 24 Czas od uzyskania pozycji mostkowej do pozycji stojącej.	63
Ryc. 25 Czas między zakończeniem znieczulenia ogólnego a ekstubacją.....	64
Ryc. 26 Czas do uzyskania pozycji stojącej od czasu zakończenia znieczulenia ogólnego. ...	65
Ryc. 27 Czas uzyskania pozycji mostkowej przez pacjentów w obu grupach.	65
Ryc. 28 Ocena bólu według skali Glasgow (CMPS-SF)	67