

Farmacocinética y Farmacodinamia del bromuro de rocuronio: Influencia de la terapia crónica con fenitoína.

Juan L. Fernández Candil

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tesisenxarxa.net) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tesisenred.net) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tesisenxarxa.net) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

Memoria para optar al Grado de Doctor:

**Farmacocinética y Farmacodinamia
del bromuro de rocuronio:
Influencia de la terapia crónica con fenitoína.**

Doctorando:

Juan L. Fernández Candil

Directores:

Prof. Neus Fàbregas Julià

Dr. Pedro L. Gambús Cerrillo

Departament de Cirurgia i Especialitats Quirúrgiques
Facultat de Medicina. Universitat de Barcelona

Barcelona, Abril 2010

“... El encadenamiento de causas y efectos es la ciencia. Si ese encadenamiento no existiera, ya no habría asidero ninguno; todo podría ser verdad... La ciencia nos da la descripción de una falange de este mamut, que se llama universo; la filosofía nos quiere dar la hipótesis racional de cómo puede ser este mamut. ¿Que ni los datos empíricos ni los datos racionales son todos absolutos? ¡Quién lo duda! La ciencia valora los datos de la observación; relaciona las diversas ciencias particulares que son como islas exploradas en el océano de lo desconocido, levanta puentes de paso entre unas y otras, de manera que en su conjunto tengan una cierta unidad. Claro que estos puentes no pueden ser más que hipótesis, teorías, aproximaciones de la verdad.”

PÍO BAROJA, El árbol de la ciencia.

Presentación

El trabajo que se presenta estudia la influencia de la Terapia Crónica con Fenitoína sobre la Farmacocinética y la Farmacodinamia del bromuro de rocuronio. Para ello, se han establecido dos líneas fundamentales: un estudio vinculado a dosis, concentraciones plasmáticas con efecto y otro intercalando las concentraciones a nivel tisular, que se han estructurado en formato “por compendio de publicaciones”.

La introducción tiene por objeto enmarcar el estado actual del tema, definiendo las cuestiones que se han considerado más relevantes sobre los bloqueantes neuromusculares, la interacción de estos con los fármacos antiepilépticos y la aplicación de los modelos poblacionales y de la microdiálisis para tratar de establecer una relación entre dosis, concentraciones de fármaco y efecto. Tras esta introducción, se han formulado unas cuestiones como objetivos del estudio. En el apartado de Material y Métodos se describe la preparación previa del doctorando, así como la planificación, el diseño y las características del análisis de datos del estudio.

Se presentan dos artículos como resultado de dicho trabajo de investigación y que dan respuesta a la hipótesis y objetivos planteados. Ambos se han analizado de forma conjunta en un apartado de discusión general. En el primer artículo se realiza una aproximación a la cuestión mediante modelos poblacionales Farmacocinéticos y Farmacodinámicos. Mediante esta rigurosa aproximación se ha confirmado que la Terapia Crónica con Fenitoína afecta de forma fundamental a la Farmacocinética del rocuronio, incrementando de forma notable su eliminación, mientras que no se han encontrado diferencias constatables en los parámetros Farmacodinámicos. En el segundo artículo, se ha utilizado la técnica de la microdiálisis para conseguir una pionera aproximación a la biofase de los fármacos, en este caso el rocuronio. Los resultados obtenidos están de acuerdo con los logrados en la primera línea pero además, al cuantificar la cantidad de fármaco que alcanza el lugar del efecto, un paso más allá de las concentraciones plasmáticas, constituye un punto de partida novedoso para una correcta y exacta dosificación farmacológica.

En el apartado de bibliografía general se incluyen las referencias utilizadas en la memoria. Por último, se ha añadido un apartado final donde se recogen otros méritos científicos derivados de esta línea de investigación.

Agradecimientos

A la **Prof. Neus Fàbregas Julià** y al **Dr. Pedro L. Gambús Cerrillo**. No sólo han sido co-directores de esta tesis doctoral y co-autores de los trabajos que en ella se presentan sino que han estado a mi lado de principio a fin, con una paciencia y dedicación infinitas. Me han enseñado muchísimo y, para mí, representan un modelo a seguir en la anestesiología y de manera especial en el ámbito de la investigación.

Al resto de co-autores de los trabajos presentados. Todos ellos han aportado cuanto ha sido necesario y mucho más. Al **Dr. Ricard Valero** y al **Dr. Kike Carrero**, por sus expertas palabras y su visión pragmática en los momentos más complicados y al **Prof. Iñaki F. Trocóniz** y a **Lorea Bueno** por su imprescindible aportación sobre Farmacología Clínica.

Quiero agradecer al **Prof. S.L. Shafer** todos sus sabios consejos sobre el proceso de análisis de datos. También mi sincero agradecimiento al **Prof. Dr. J. Lötsch** y al **Dr. Skarke** que compartieron con nosotros su amplia experiencia en el uso de la microdiálisis y su aplicación a los estudios PKPD, indispensable para el diseño del segundo trabajo, además de su amable recibimiento en el laboratorio en el que desarrollan sus proyectos.

Al **Dr. Lora-Tamayo** por poder contar con su preciada opinión en el campo de los bloqueantes neuromusculares y, por supuesto, por permitirme utilizar sus esquemas y dibujos en esta tesis doctoral. Me han sido de gran ayuda por su claridad y capacidad de síntesis. También mi agradecimiento a la **Dra. Elizabeth Zavala** por facilitar sus conocimientos y parte del material relacionado con la microdiálisis y a **Mary Ellen Kerans** y **Marta Pulido** por su inestimable ayuda a la hora de traducir y mejorar el artículo de la microdiálisis.

A **Ana, Gloria, Julia, Antonia y Marisa**, enfermeras y auxiliares del quirófano de neurocirugía del Hospital Clínic de Barcelona, ya que hicieron más fácil y amena la recogida de los casos del estudio, y especialmente a **Gemma**, que me ayudó enormemente aplicando el planning de actuación, con el complejo montaje del material y con la recogida de muestras en quirófano. Quiero agradecer al personal de laboratorio toda la ayuda que me brindaron en el tratamiento de dichas muestras, sobre todo a **Carmen Navarro**, a la que no le importó nunca ayudarme cuando lo necesité.

Quiero dar las gracias a la **Prof. Carmen Gomar** y al **Dr. Fernando Escolano**. Ellos han sido y son los máximos responsables de mi formación y trayectoria profesional como anestesiólogo. Además les tengo que agradecer el haber tratado siempre de facilitar los farragosos trámites burocráticos que envuelven a una tesis doctoral.

A todos y cada uno de **mis compañeros de trabajo**. En cualquiera de los hospitales en que he desarrollado mi trabajo como anestesiólogo, siempre se han interesado por mi situación, ayudándome en todo lo que les he solicitado. Especialmente, quiero agradecer a la **Dra. Teresa Silva**, a la **Dra. Ester Vila**, al **Dr. Lluís Gallart** y al **Dr. Christian Dürsteler** todos los sinceros consejos “del que ya ha pasado por allí...”

A todos **mis amigos**, con los que he tenido los necesarios momentos de evasión y desconexión de este gran proyecto. Todos ellos me han ofrecido su apoyo, amistad y buen humor en innumerables ocasiones, aunque me gustaría nombrar a **Miguel, Eli, Jordi, Mónica, Marta, Vera, Velaz, Rosana, Gerard, Eva, Dani y Cristina** por tener eternamente en los labios la frase: “Puedes contar conmigo”.

A toda **mi familia**, que me ha sabido entender y ayudar, sobre todo en los momentos más arduos. Mi agradecimiento particular a **Susana**, por todas las palabras de apoyo y por sentir que siempre está ahí: muchas gracias, hermana. Pero me gustaría destacar de una forma muy singular a **mis padres**, a los que les debo el haberme inculcado unos valores y la mejor educación que he podido tener con sus medios y posibilidades. Su esfuerzo y su sacrificio durante toda su vida ha servido para poder hacer realidad mi sueño de ser médico y mi empeño de seguir mejorando día a día en mi especialidad.

A **Mónica**, por su paciencia y comprensión, pero sobre todo por demostrarme su cariño durante todo este tiempo, tanto en los días buenos como en los no tan buenos. Con ella he aprendido que para conseguir las cosas, no sólo es necesaria la ilusión, el esfuerzo y la constancia sino que también es imprescindible sentir y compartir apoyo incondicional y amor ilimitado. “Always”.

Por último, quisiera dar las gracias a **Álex**. Él todavía no lo sabe, pero con su mágica sonrisa, es el verdadero responsable de que no haya desfallecido en los momentos más difíciles. Él supone el mayor estímulo para hacerme ver todo lo positivo que ofrece la vida. Te quiero mucho, hijo mío.

En definitiva, gracias a todos los que me han ayudado a ser lo que ahora soy...

La impresión y encuadernación de este trabajo ha sido financiada por la Fundación IMIM.

Abreviaturas

- AAG: α 1-glicoproteína
- Ach: Acetilcolina
- AMG: Aceleromiografía
- AP: Adductor del pulgar
- BNM: Bloqueantes Neuromusculares
- BNMD: Bloqueantes Neuromusculares Despolarizantes
- BNMND: Bloqueantes Neuromusculares No Despolarizantes
- CE₅₀: Concentración eficaz 50
- Cl: Clearance (Aclaramiento)
- CM: Concentración en el microdializado
- CPK: Creatinfosfoquinasas
- CTR: Concentración tisular real
- DBS: Estímulo de doble ráfaga
- DE₉₅: Dosis eficaz 95
- DUR 25: Duración clínica eficaz
- DUR 90: Duración noventa
- EMG: Electromiografía
- ENP: Estimulador de nervio periférico
- FDA: Food and drug administration
- FE: Fracción de extracción
- GAM: Generalized Additive Model
- iv: intravenoso
- KMG: Cinemiografía
- MMG: Mecanomiografía
- NONMEM: Análisis no linear de efectos mixtos
- PD: Farmacodinámica

- PK: Farmacocinética
- PMG: Fonomiografía
- PPT: Potenciación Postetánica
- PTC: Contaje postetánico
- RmAch: Receptor muscarínico de la Acetilcolina
- Rn: Receptor nicotínico
- RnAch: Receptor nicotínico de la Acetilcolina
- SC: Succinilcolina
- TCF: Terapia Crónica con Fenitoína
- TOF: Tren de cuatro
- UNM: Unión Neuromuscular

Índice

1. RESUMEN-SUMMARY.....	1
2. INTRODUCCIÓN	9
2.1. Fisiología de la unión neuromuscular	11
2.2. Bloqueantes Neuromusculares.....	16
2.2.1. Historia.....	16
2.2.2. Acción de los Bloqueantes Neuromusculares a nivel de la placa motora.....	17
2.2.2.1. Mecanismo de acción de los Bloqueantes Neuromusculares Despolarizantes	17
2.2.2.2. Mecanismo de acción de los Bloqueantes Neuromusculares No Despolarizantes	19
2.2.3. Otros efectos farmacológicos de los Bloqueantes Neuromusculares.....	21
2.2.4. Monitorización del efecto de los Bloqueantes Neuromusculares	23
2.2.4.1. Generalidades	23
2.2.4.2. Respuesta a los patrones de estimulación.....	27
2.2.4.3. Parámetros de monitorización neuromuscular	29
2.2.4.4. Sistemas de registro.....	34
2.2.5. Bromuro de Rocuronio.....	36
2.3. Interacción de los fármacos antiepilépticos con los Bloqueantes Neuromusculares.....	37
2.4. Relación entre dosis, concentraciones plasmáticas y tisulares y efecto.....	41
2.4.1. Aplicación de los modelos PKPD.....	41
2.4.1.1. Definición de modelo. Compartimento del efecto	41
2.4.1.2. Aproximación poblacional.....	45
2.4.1.3. Métodos estadísticos. NONMEM.....	46
2.4.2. Aplicación de la microdiálisis.....	48
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	53
4. MATERIAL Y MÉTODOS	57
4.1. Preparación previa del doctorando.....	59
4.2. Diseño del estudio.....	60
4.2.1. Diseño PK	60
4.2.2. Diseño PD	62
4.2.3. Diseño Microdiálisis	65
4.3. Análisis de datos. Construcción y evaluación del modelo PKPD	67

5. RESULTADOS (ARTÍCULOS PUBLICADOS).....	71
5.1. Artículo 1.	73
<p>Fernández-Candil J., Gambús PL, Trocóniz IF, Valero R, Carrero E, Bueno L, Fábregas N. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the influence of chronic phenytoin therapy on rocuronium bromide response in patients undergoing brain surgery. <i>European Journal of Clinical Pharmacology</i> (2008) 64:795-806. (Original) IF 2.5 (2008)</p>	
5.2. Artículo 2.	87
<p>Fernández-Candil J., Gambús PL, Trocóniz IF, Valero R, Carrero E, Fábregas N. Feasibility of Microdialysis to Determine Interstitial Rocuronium Concentration in the Muscle Tissue of Anesthetized Neurosurgical Patients. <i>Journal of Neurosurgical Anesthesiology.</i>(2010) 22(2):163-9 (Original) IF 2.33 (2010)</p>	
6. DISCUSIÓN	97
7. CONCLUSIONES	111
8. BIBLIOGRAFIA	115
9. OTROS MÉRITOS CIENTÍFICOS DERIVADOS DE ESTA LÍNEA DE INVESTIGACIÓN .	129
9.1. Becas FIS concedidas	131
9.2. Comunicaciones a congresos	132
9.3. Premios	133

1. RESUMEN

ANTECEDENTES: La administración crónica de fármacos antiepilépticos disminuye la intensidad del efecto de los fármacos bloqueantes neuromusculares (BNM), aunque existe cierta discrepancia a la hora de explicar si esta interacción se produce a nivel farmacocinético (PK) y/o farmacodinámico (PD). La cuantificación de la concentración de fármaco en un lugar próximo a su lugar de acción podría clarificar los posibles mecanismos que producen la interacción entre los BNM y los fármacos antiepilépticos. La microdiálisis tisular es una técnica relativamente nueva que se ha utilizado para determinar concentraciones de sustancias en el fluido extracelular de los tejidos. Podría ser una buena alternativa para explorar de qué forma los BNM alcanzan la unión neuromuscular y de cómo los antiepilépticos pueden afectarla.

OBJETIVOS: Los objetivos de este trabajo fueron: en primer lugar definir la relación entre dosis, concentración y efecto bloqueante neuromuscular en el caso del rocuronio utilizando modelos PKPD y posteriormente evaluar la influencia de la terapia crónica con fenitoína (TCF) sobre este modelo. El segundo objetivo fue determinar la posibilidad de recuperar rocuronio desde el tejido intersticial muscular mediante la técnica de la microdiálisis, para explorar las posibles discrepancias entre los pacientes debidas a la TCF.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se han realizado dos estudios para tratar de abordar el problema: el primero basado en la aproximación poblacional utilizando modelos PKPD y el segundo basado en la técnica de la microdiálisis. En el primer estudio, se incluyeron 21 pacientes sometidos a cirugía intracraneal, 10 de los cuales se encontraban en TCF. A todos ellos se les administró bromuro de rocuronio de forma intravenosa (bolus más infusión continua). Se extrajeron muestras plasmáticas y se registró el efecto obtenido mediante electromiografía de forma continua. Se utilizó NONMEM para construir, evaluar y validar los modelos PKPD. En el caso de la microdiálisis, se realizó un estudio "In Vitro" para conocer la velocidad de infusión óptima así como el tiempo de extracción entre muestras y se estimó la tasa de recuperación para el rocuronio, utilizando la infusión de diferentes concentraciones de este fármaco. En la siguiente fase se estudiaron 17 pacientes sometidos a cirugía intracraneal (incluidos en el estudio previo), 8 de los cuales se encontraban en TCF.

RESULTADOS: En el primer artículo se ha descrito el PKPD del bromuro de rocuronio utilizando un modelo tricompartmental asociado a un modelo de compartimento del efecto. Se ha observado que la TCF produce un incremento del aclaramiento plasmático de 0,26 hasta 0,75 L·min⁻¹, mientras que el resto de parámetros PK no se afectan. Las estimaciones de los parámetros del modelo PD han sido las siguientes: $k_{e0} = 0,073 \text{ min}^{-1}$, $C_{e50} = 836 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ y $\gamma = 3,13$. En el segundo estudio destaca que la tasa de recuperación estimada para el rocuronio es del 36% para una velocidad de la bomba de microdiálisis de 1 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. Se han podido cuantificar las concentraciones de bromuro de rocuronio en el músculo en 25 muestras. Las concentraciones de rocuronio tisular fueron similares en los pacientes con TCF que en los pacientes control, sin embargo, las dosis requeridas con TCF fueron significativamente mayores. Estos resultados confirman a los hallados en el primer estudio, ya que un mecanismo exclusivamente PK podría explicarlos (llega menos fármaco a la biofase debido al incremento en su aclaramiento).

CONCLUSIONES: Se ha definido la relación entre dosis, concentración y efecto de BNM inducido por el rocuronio mediante modelos PKPD. Nuestros resultados sugieren que únicamente mecanismos PK podrían explicar la mayor dosis requerida en el caso de pacientes con TCF. La TCF incrementa el aclaramiento del rocuronio de 0,26 hasta 0,75L·min⁻¹ pero no tiene efecto sobre el resto de parámetros PK ni sobre los parámetros PD. Por otro lado, la cuantificación de fármacos gracias a la microdiálisis es técnicamente posible en el entorno clínico y podría ser de ayuda en el estudio de los mecanismos que producen el efecto de los fármacos.

Palabras clave: Interacciones farmacológicas, NONMEM, Modelos PKPD, Rocuronio, Microdiálisis, Fenitoína.

SUMMARY

BACKGROUND: Chronic administration of antiepileptic drugs decrease the intensity of the effect of neuromuscular blocking agents (NMBA), although there is some discrepancy to explain if this interaction occurs on pharmacokinetic and/or pharmacodynamic level. Quantification of drug concentrations near its effect site could clarify the possible mechanisms underlying the interaction between NMBA and antiepileptic drugs. Tissue microdialysis is a relatively new technique used to determine the concentrations of substances in the extracellular fluid of tissues. It could be a good alternative to explore how NMBA could reach the neuromuscular junction and how antiepileptics could affect it.

OBJETIVES: The objectives of this study were first to define the relation between dose, concentration and effect of neuromuscular blocking in the case of rocuronium using PKPD models and then to evaluate the influence of chronic phenytoin therapy (CPT) on this model. The second objective was to determine the ability of microdialysis to recover rocuronium from muscle interstitial tissue, to explore possible discrepancies between patients due to CPT.

MATERIAL AND METHODS: We performed two studies in order to solve the problem: the first one is based in population approach using PKPD models and the second one is based in the technique of microdialysis. In the first study a total of 21 patients undergoing intracranial surgery were enrolled. Ten of these were under CPT. In all cases, rocuronium was administered intravenously (bolus plus continuous infusion). Arterial blood samples were drawn and the response derived from electromyogram was continuously recorded. NONMEM software was used to construct, evaluate and validate PKPD models. To know the optimal speed of infusion and microdialysis sampling scheme and estimate the recovery ratio for rocuronium an “In Vitro” study was performed using different rocuronium infusate concentrations. In the next phase, 17 patients undergoing brain surgery were enrolled (they were included in the previous study). Eight patients were on CPT.

RESULTS: In the first study the PKPD of rocuronium was described using a three-compartment PK model linked to an effect compartment. The CPT therapy was found to affect only total plasma clearance increasing from 0.26 to 0.75 L·min⁻¹ while the remaining PK parameters were not affected. The PD model parameter estimates were $k_{e0} = 0.073 \text{ min}^{-1}$, C_{e50} (the steady-state plasma concentration eliciting half of the maximum response) = 836 ng·mL⁻¹ and $\gamma = 3.13$. In the second study the recovery rate for rocuronium was estimated to be 36% at a pump rate of 1 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. Rocuronium muscle tissue concentrations could be measured in 25 microdialysate samples. Rocuronium concentrations were similar in patients treated with phenytoin and in controls, although the doses required to obtain a similar effect were significantly higher in patients on CPT. This findings confirm the results in the first study, due to a PK mechanism could be explain them (less drug reaches the biophase due to its clearance).

CONCLUSIONS: We defined the relation between dose, concentration and effect of rocuronium using PKPD models. Our results suggest that only PK mechanisms could explain the biggest dose required in case of CPT. CPT increases the clearance of rocuronium from 0.26 to 0.75 L·min⁻¹ but has no effect on the the remaining PK or PD parameters. On the other hand, the quantification of microdialysis is technically feasible in the clinical setting and it might help in studying pharmacologic mecanisms of drug action.

Key words: Drug interactions, NONMEM, Population PKPD, Rocuronium, microdialysis, phenytoin.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Fisiología de la unión neuromuscular

La contracción de la musculatura esquelética es posible gracias a la transmisión de una señal eléctrica generada en la corteza cerebral hasta las fibras musculares. En el trayecto de esta señal intervienen dos conjuntos de neuronas. El cuerpo de la primera neurona se encuentra localizado en el córtex. Su axón forma parte de la vía piramidal y desciende atravesando la sustancia blanca, formando parte de la cápsula interna, se decusa en el bulbo raquídeo y hace sinapsis con el cuerpo de la segunda neurona situada en el asta anterior de la médula (aunque hay algunas neuronas que no siguen este trayecto sino que hacen sinapsis con la segunda neurona en los núcleos motores de los pares craneales). El axón de la segunda neurona (motoneurona α) forma parte del nervio motor que inerva al músculo esquelético y pertenece al sistema nervioso somático.^{1,2} Dicho axón está recubierto de una vaina aislante de mielina con una serie de interrupciones que constituyen los nodos de Ranvier y que permiten una conducción saltatoria más rápida del estímulo eléctrico. Finalmente, cada axón se ramifica en 20-100 fibras nerviosas terminales, cada una de las cuales acabará inervando a una célula muscular (**Figura 1**). Se define Unidad Motora como el conjunto de células musculares inervadas por las fibras nerviosas terminales de un mismo axón.³

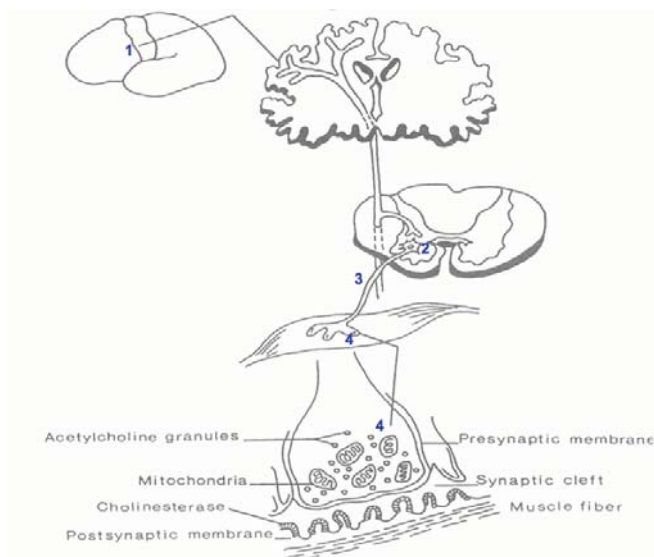


Figura 1. Trayecto del estímulo nervioso, desde el córtex hasta la célula muscular.

1. Primera neurona de la Vía Piramidal, 2. Segunda neurona de la Vía Piramidal, 3. Nervio somático,
4. Unión Neuromuscular (UNM)

Figura adaptada del "Curso sobre Monitorización del Neuromuscular", con el consentimiento del autor.⁴

En la sinapsis entre el axón de esta motoneurona con la fibra muscular esquelética tiene lugar la transmisión nerviosa gracias a la existencia de una estructura especializada llamada Unión Neuromuscular (UNM) o Placa Motora Terminal (**Figura 2**). Se considera esta UNM como la biofase o “compartimento del efecto” para los Bloqueantes Neuromusculares (BNM). El mecanismo de la transmisión neuromuscular consiste en la liberación del neurotransmisor acetilcolina (Ach), y su unión a los receptores de la membrana postsináptica.⁵ La UNM está compuesta por el terminal presináptico, la hendidura sináptica y la membrana postsináptica. El terminal presináptico está constituido por la fibra nerviosa terminal recubierta únicamente por una célula de Schwann ya que a este nivel ya ha perdido la vaina de mielina. En la hendidura sináptica (50-60 nm) se encuentra la membrana basal. En ésta está localizada la acetilcolinesterasa, enzima sintetizada en la célula muscular, responsable del metabolismo de la Ach.³ En la membrana postsináptica se encuentran los Receptores Nicotínicos para la Acetilcolina (RnAch) y unos canales de Na⁺ voltaje dependientes, que responden a la despolarización producida por un potencial de placa y generan un potencial de acción que se transmitirá por toda la célula muscular, produciendo una liberación de Ca²⁺ desde el retículo sarcoplasmático y posibilitando de esta forma la contracción del músculo. La reentrada de Ca²⁺ al retículo sarcoplasmático inicia la relajación muscular que finaliza con la repolarización de la membrana.

En el cuerpo de la motoneurona se generan las enzimas necesarias para la síntesis, almacenamiento y liberación de la Ach y son transportadas mediante microtúbulos hasta el terminal presináptico, donde se sintetiza la Ach, a partir de colina y acetato. Esta Ach se almacena en vesículas. La gran mayoría de ellas forman un “pool de reserva” y tan sólo un 1% se almacena en lo que se conoce como “zonas activas”, de forma que este “pool disponible” se libera de forma rápida en respuesta a un potencial de acción que condiciona la entrada de Ca²⁺ en el terminal presináptico.³

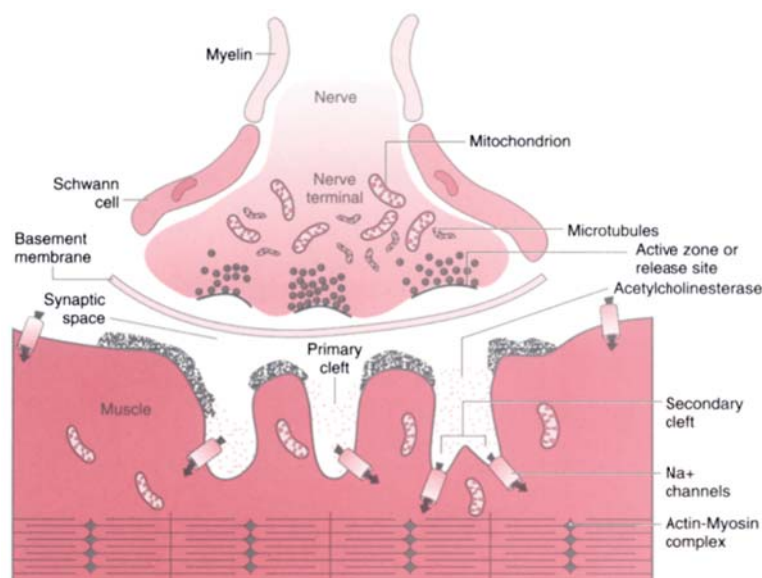


Figura 2. Diagrama que representa los componentes de la UNM.³

La hendidura sináptica queda delimitada entre el axón terminal (arriba) y la célula muscular (abajo). Las vesículas de Ach se agrupan en torno a la zona activa. Los RnAch se representan como punteado negro sobre las crestas de la membrana postsináptica.

Figura reproducida del “Curso sobre Monitorización del Neuromuscular”, con el consentimiento del autor.⁴

La unión de la Ach con el RnAch produce un cambio conformacional en las cadenas polipeptídicas que constituyen las subunidades del receptor, permitiendo la apertura del canal transmembrana y el flujo de cationes hacia el interior (Na^+ y Ca^{2+}) y el exterior (K^+) a favor del gradiente de concentración. Posteriormente se produce la hidrólisis de la Ach gracias a la acetilcolinesterasa.⁶ La mayor resistencia de un músculo al efecto de los BNM viene determinada por el número de RnAch postsinápticos de la UNM.

En determinadas situaciones patológicas se pierde el agrupamiento de los RnAch en la UNM y se produce un sobrecrecimiento de receptores a lo largo de toda la membrana citoplasmática de la célula muscular. Este fenómeno se conoce como “up regulation”^{5,7} y se puede observar en situaciones como la denervación muscular, accidente vascular cerebral, quemaduras, inmovilización prolongada, esclerosis múltiple.... Estos nuevos receptores son inmaduros y se caracterizan por tener una subunidad “ γ ” en lugar de una “ ϵ ” ($2\alpha_1\beta_1\delta\gamma$). También se denominan receptores fetales por ser característicos de esta fase del desarrollo. Cuando aparecen estos receptores inmaduros el tiempo de apertura del canal es mayor, motivo por el cual la salida de K^+

se ve incrementada. Esta situación tiene relevancia clínica y ha de tenerse muy en cuenta, puesto que esta elevación del K^+ podría poner en riesgo la vida de este tipo de pacientes.⁸ Además también pueden aparecer unos nuevos receptores nicotínicos homoméricos propios del tejido neuronal ($\alpha 7$).⁹

En otras ocasiones ocurre el fenómeno contrario, es decir, se produce una disminución en el número de RnAch⁷ de forma que la transmisión neuromuscular se ve afectada. Este fenómeno se llama “down regulation” y se puede observar en situaciones como la miastenia gravis, intoxicación por anticolinesterásicos.... En la anestesia de los pacientes con miastenia gravis no están contraindicados los BNM³, aunque su uso ha de ser reducido y es necesaria una adecuada monitorización para controlar su efecto. En la **Tabla 1** se resumen las características principales de los receptores implicados en la contracción muscular y la **Figura 3** muestra con mayor detalle la estructura de los receptores “maduros” e “inmaduros”.

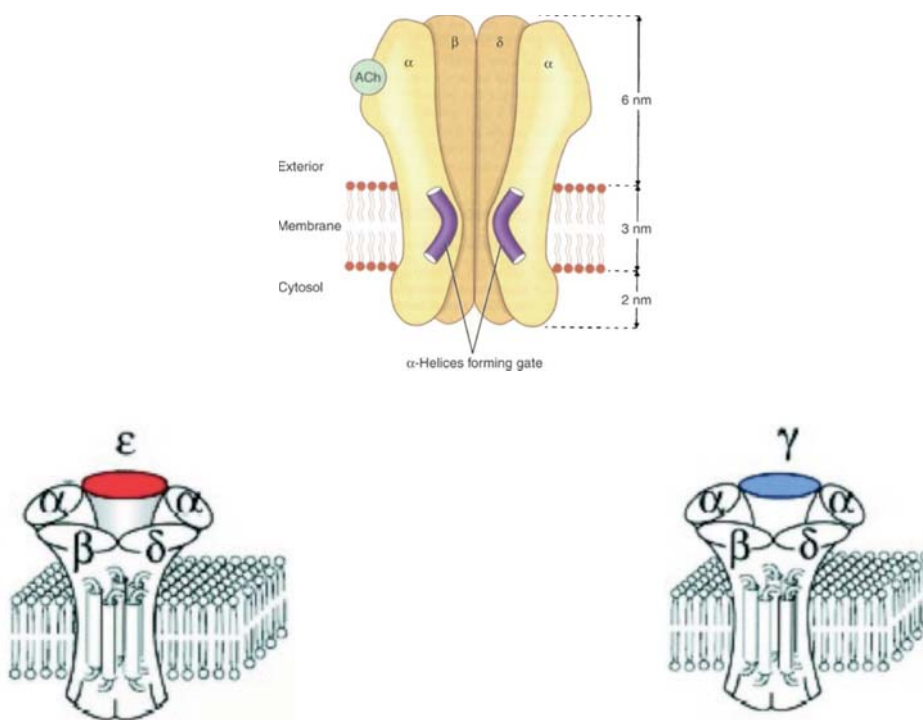


Figura 3. Estructura del RnAch.⁵

Arriba, sección longitudinal del RnAch, en la que se muestra que se trata de un canal iónico transmembrana, compuesto por cinco subunidades (tras la sección únicamente se reflejan cuatro).

Abajo, a la izquierda un receptor maduro ($2\alpha_1\beta_1\delta\varepsilon$) y a la derecha un receptor inmaduro ($2\alpha_1\beta_1\delta\gamma$)

Figura reproducida del “Curso sobre Monitorización del Neuromuscular”, con el consentimiento del autor.⁴

RECEPTOR	ESTRUCTURA	CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES
Presinápticos		
RnAch	5 subunidades proteicas ¹⁰ $\alpha_3\beta_2$	<ul style="list-style-type: none"> - Promueven un mecanismo de feed-back positivo movilizando Ach. - Responsables del fade, típico con BNM no despolarizantes.⁹ (véase apartado 2.2.4.2.)
RnAch	No definida	<ul style="list-style-type: none"> - Se ha propuesto, aunque no demostrado, su existencia. - Probablemente situado en el primer nódulo de Ranvier. - Responsable de las descargas de repetición
RmAch	No definida	<ul style="list-style-type: none"> - Se ha propuesto, aunque no demostrado, su existencia. - Serían de tipo inhibitorio
Postsinápticos		
RnAch “maduro”	5 subunidades proteicas ^{5,11} (sintetizadas por las células musculares y ancladas a UNM por la rapsina) ⁶ $2\alpha_1\beta_1\delta\epsilon$	<ul style="list-style-type: none"> - 250 KDa - Cada molécula de Ach se une a un único “lugar de reconocimiento” (entre α_1 y δ) - Son necesarias dos moléculas de Ach (una para cada “lugar de reconocimiento”), hecho que acaba produciendo la contracción muscular.^{9,12,13}
RnAch “inmaduro”	5 subunidades proteicas (cambio de ϵ por γ con respecto al maduro) $2\alpha_1\beta_1\delta\gamma$	<ul style="list-style-type: none"> - También denominados fetales (característicos de esta fase del desarrollo) - Son extrasinápticos - Formación y destrucción más rápida que los maduros - El tiempo de apertura del canal es el triple que en los maduros (aumenta la salida de K^+)
Rn Homoméricos neuronales	7 subunidades proteicas ⁹ α_7	<ul style="list-style-type: none"> - Muy resistentes a los BNM no despolarizantes pero muy sensibles a la colina. - Producen liberación masiva de K^+

Tabla 1: Características principales de los Receptores implicados en la UNM.¹⁴

Rn = Receptor nicotínico; Rm = Receptor muscarínico; Ach = Acetilcolina

2.2. Bloqueantes Neuromusculares.

2.2.1. Historia

Los primeros escritos conocidos sobre la utilización de BNM están relacionados con el descubrimiento de América, ya que en el siglo XV los indígenas de la cuenca del río Amazonas usaban la tubocurarina para envenenar las flechas que usaban en las cacerías. Edward Bancroft fue médico del territorio que acabaría constituyendo la Guayana Británica. Éste proporcionó a su hijo, Edward Nathaniel, unas muestras de curare que había traído consigo al volver de las Indias. Edward Nathaniel, también médico, se asoció con Sir Benjamín Collins Brodie (1783-1862), fisiólogo y cirujano inglés, quien realizó una serie de experimentos con esta sustancia, hasta describir por primera vez (1812) el efecto paralizante del curare sobre los músculos respiratorios. Brodie demostró que era posible mantener con vida a los animales curarizados si se les suministraba ventilación artificial. Por otro lado demostró la falta de acción de este fármaco sobre el corazón ya que con posterioridad a su administración, éste continuaba latiendo. Charles Waterton (1782-1865), en el manuscrito “Waterton’s Wanderings in South America”, describió un experimento similar inflando los pulmones de una burra con un fuelle de forma que consiguió mantenerla con vida a pesar de haberle suministrado curare. Claude Bernard (1813-1878), biólogo, fisiólogo y médico francés mostró en unos experimentos llevados a cabo en 1857 y confirmados varios años después, que el curare actuaba sobre la UNM bloqueando el impulso de los nervios motores, y de esta forma estableció las bases científicas de los BNM. En 1942, Griffith y Johnson¹⁵, dos anestesiólogos canadienses, sugirieron que la d-tubocurarina era un fármaco que proporcionaba una buena relajación del músculo esquelético y que se mostraba seguro para ser usado durante la cirugía. En 1947, Daniel Bovet obtuvo la Gallamina, primer derivado sintético de esta familia de fármacos. Dos años más tarde sintetizó la Succinilcolina (SC), que se introdujo en clínica humana en 1951 por Brücke en Viena¹⁶ y Thesleff en Estocolmo.¹⁷ Con posterioridad, han ido apareciendo nuevos fármacos BNM, de forma que en la actualidad es posible escoger el mejor BNM para el paciente según la patología que presente y/o las necesidades anestésico-quirúrgicas en función del procedimiento a que vaya a ser sometido.^{14,18}

2.2.2. Acción de los Bloqueantes Neuromusculares a nivel de la placa motora.

Los fármacos BNM actúan a nivel de la UNM, concretamente sobre el RnACh, bloqueando la transmisión de la señal nerviosa que acabaría suponiendo la contracción del músculo. (**Figura 4**). De esta forma ocasionan su efecto farmacológico más importante: la inmovilidad en el paciente. El mecanismo de acción difiere según se trate de BNM despolarizantes (mecanismo basado en la persistencia de la despolarización) o no despolarizantes (mecanismo basado en un bloqueo competitivo de los RnACh).¹⁴

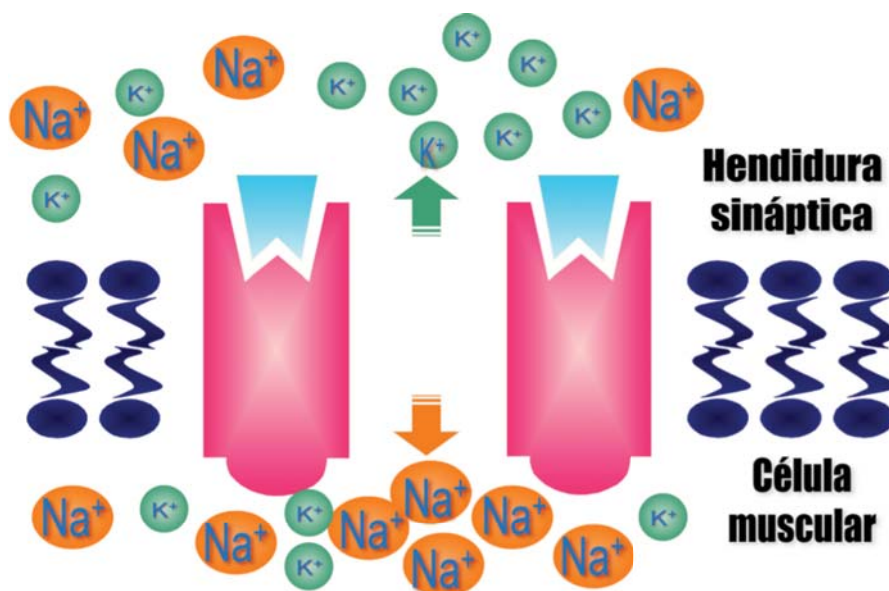


Figura 4: Esquema que representa la unión de la ACh (en azul claro) al RnACh (en rosa), así como la entrada y salida de Sodio (Na⁺) y Potasio (K⁺) a través del canal en ausencia de BNM.

Figura adaptada del "Curso sobre Monitorización del Neuromuscular", con el consentimiento del autor.⁴

2.2.2.1. Mecanismo de acción de los Bloqueantes Neuromusculares Despolarizantes

Los BNM despolarizantes, cuyo máximo representante es la SC, poseen actividad intrínseca (agonistas) y se unen al RnACh activándolo.⁷ Su desaparición de la hendidura sináptica es lenta, ya que no son hidrolizados por la acetilcolinesterasa como le sucede a la ACh, de forma que se permite la unión repetida del BNM a los receptores,

prolongándose el tiempo que la membrana postsináptica permanece despolarizada, produciendo con ello la relajación muscular. (**Figura 5**)

De esta forma, la SC permite la apertura del canal. Para poder dar lugar a la despolarización de la membrana, es necesario que se ocupen los dos lugares de reconocimiento de las subunidades “ α_1 ” de forma que la ocupación puede ser por una molécula de SC y una de Ach o dos moléculas de SC. Con un 25% de los RnAch abiertos es suficiente para generar una despolarización permanente de la membrana muscular y producir un bloqueo despolarizante. Se produce un flujo continuo de corrientes eléctricas locales por las que, una vez inactivados los canales de Na^+ y abolida su conductancia, siguen abiertos los canales de K^+ y restauran el potencial de membrana de reposo, de forma que el músculo permanece inexcitable.^{10,19} Por este motivo, inicialmente se produce una excitación y contracción visible del músculo (fasciculaciones), resultado de la despolarización aleatoria de distintas fibras musculares, para a continuación producirse una parálisis flácida. Sin embargo, si continúa la exposición de la SC en la UNM, el bloqueo pasa a tener, en mayor o menor grado, las características de un bloqueo no despolarizante. Es lo que se conoce como Bloqueo en fase II, cuyo mecanismo todavía no está totalmente dilucidado.^{6,20,21}

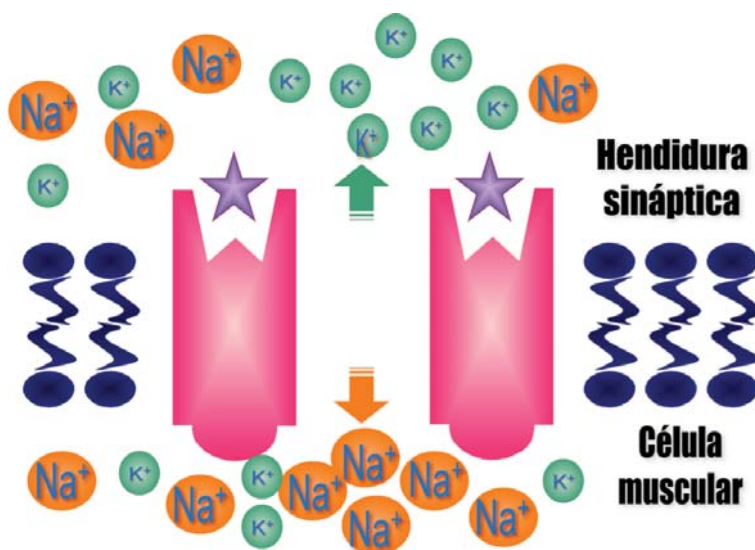


Figura 5: Esquema que representa la unión del BNM Despolarizante (estrella lila) al RnAch (en rosa), así como la entrada y salida de Sodio (Na^+) y Potasio (K^+) a través del canal.

Figura adaptada del “Curso sobre Monitorización del Neuromuscular”, con el consentimiento del autor.⁴

2.2.2.2. Mecanismo de acción de los Bloqueantes Neuromusculares No Despolarizantes

En el caso de los BNM No despolarizantes, el mecanismo de acción es distinto. Existe afinidad entre el receptor y el BNM pero este último es incapaz de producir el cambio conformacional en la proteína del receptor que origina la apertura del canal iónico.⁵ Sin embargo, impide el acceso de la Ach al RnAch, actuando como antagonista competitivo^{7,10} y produciendo la relajación muscular (**Figura 6**)

Los fármacos que lo producen, se unen a uno o a ambos receptores de las subunidades “ α_1 ” del RnAch, de forma que se reduce la apertura del canal (o queda abolida si las dosis son suficientemente altas). Las moléculas de los BNM no despolarizantes se disocian espontánea y rápidamente del receptor, para volver a unirse a ese u otro receptor, hasta que el gradiente de difusión haga disminuir su concentración, ya que no son metabolizadas por la acetilcolinesterasa. Una única molécula unida a un lugar de reconocimiento de las subunidades “ α_1 ” es suficiente para inactivar el canal de forma competitiva. Debido al margen de seguridad de la transmisión neuromuscular, es necesario inactivar el 75% de los RnAch para que se inicie la instauración del bloqueo no despolarizante. Este es el mecanismo fundamental de acción de este tipo de fármacos, pero existen otras acciones no competitivas que contribuyen o modifican el bloqueo. De esta forma se puede producir bloqueo del canal, bloqueo por desensibilización y bloqueo por alteración del entorno lipídico.²² En el bloqueo del canal se produce la obstrucción física por parte de la molécula, de forma que se impide el paso de los iones, bloqueando la transmisión. En el bloqueo por desensibilización se produce un cambio en la configuración del receptor y los canales, imposibilitando la apertura de estos últimos. Este cambio en la configuración parece estar relacionado con la fosforilación de las proteínas del canal, aunque todavía existen muchas dudas al respecto. En el bloqueo por alteración del entorno lipídico se produce la disolución de la sustancia o el fármaco en la membrana lipoidea, alterando el entorno de los canales e impidiendo los cambios rotacionales necesarios para su apertura.¹⁴

Existen una serie de factores que aumentan el bloqueo neuromuscular producido por este tipo de fármacos, entre los que se encuentran los siguientes: hipotermia,

acidosis respiratoria, hipokalemia, hipocalcemia, hipermagnesemia, función adrenocortical reducida y pacientes gravemente enfermos. Lo mismo ocurre con algunos fármacos tales como anestésicos inhalatorios, antibióticos aminoglicósidos, clindamicina, estreptomina, polimixina A y B, anestésicos locales, antiarrítmicos cardiacos como lidocaína, quinidina, procainamida, bloqueantes de los canales de calcio, diuréticos de asa, furosemida, azatioprina, tiazidas, magnesio, litio, clorpromazina, fenitoína y bloqueantes ganglionares.

Los BNM no despolarizantes pueden clasificarse según su estructura química. De esta forma distinguimos entre los bencilisoquinoleínicos (d-tubocurarina, atracurio, cisatracurio, mivacurio...) y los aminoesteroides (pancuronio, vecuronio, rocuronio, rapacuronio...). De todo el amplio abanico de BNM, se ha escogido el bromuro de rocuronio como eje central en este trabajo ya que, aunque todavía se encuentra lejos de ser el BNM ideal, posee unas características (latencia, estabilidad, ausencia de metabolitos activos...) que lo han convertido en uno de los BNM de elección en la práctica habitual.

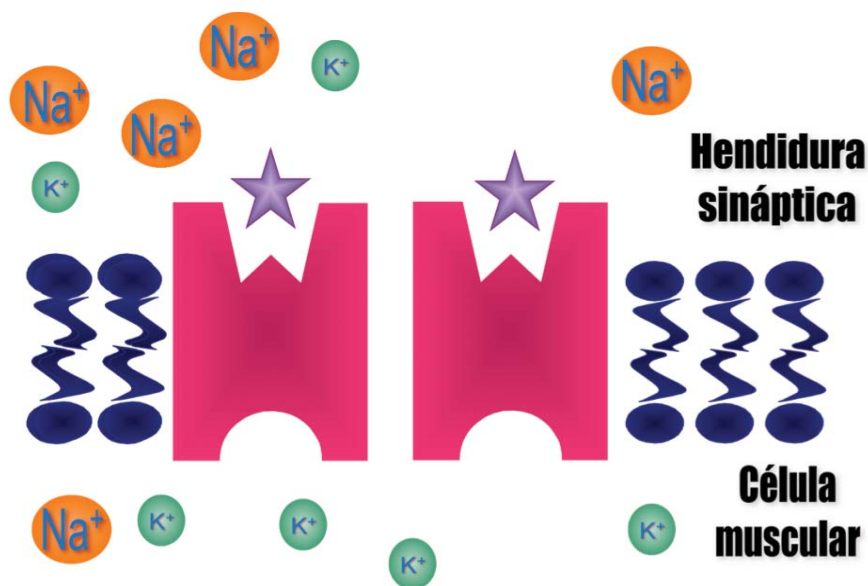


Figura 6: Esquema que representa la unión del BNM No Despolarizante (estrella lila) al RnACh (en rosa). También se observa como el canal queda bloqueado.

Figura adaptada del "Curso sobre Monitorización del Neuromuscular", con el consentimiento del autor.⁴

2.2.3. Otros efectos farmacológicos de los Bloqueantes Neuromusculares

Además de la parálisis muscular, los BNM producen una serie de efectos colaterales que es preciso conocer por sus implicaciones clínicas. En el caso de los BNM despolarizantes (SC), la mayoría de estos efectos derivan de su mecanismo de acción. Como ya se ha comentado, al tratarse de dos moléculas de Ach unidas, producen una despolarización prolongada de la placa terminal muscular provocando inicialmente fasciculaciones⁸ que conllevan una serie de consecuencias.

Cuando se trata de los BNM no despolarizantes, al ser componentes derivados del amonio cuaternario igual que la Ach, pueden provocar, en mayor o menor grado, la estimulación o el bloqueo de los receptores colinérgicos repartidos por todo el organismo^{11,23}. Estos receptores pueden ser nicotínicos, como los de la UNM y los ganglios autonómicos y también muscarínicos, incluyendo los receptores parasimpáticos postganglionares de órganos como el intestino, vesícula biliar, bronquios, corazón y pupilas.²⁴

En la **Tabla 2** se recogen los efectos farmacológicos más relevantes clínicamente.

	EFFECTOS FARMACOLÓGICOS
BNM DESPOLARIZANTES²⁵	<ul style="list-style-type: none"> • Efectos musculares: Fundamentalmente debidos a las fasciculaciones. <ul style="list-style-type: none"> ○ Incremento de la presión intraabdominal (se facilita la regurgitación) ○ Mialgias, mioglobinuria y aumento de las creatinfosfoquinas (CPK) ○ Espasmo de maseteros²⁶ ○ Reacciones miotónicas (especialmente en niños) • Efectos sobre el aparato cardiovascular: <ul style="list-style-type: none"> ○ Agonismo sobre receptores muscarínicos en el nodo sinusal: bradicardia sinusal (especialmente en niños) ○ Agonismo sobre receptores nicotínicos de los ganglios simpáticos y parasimpáticos • Hiperpotasemia²¹: Especialmente importante en pacientes con aumento de receptores extrasinápticos (encamamiento prolongado, encefalitis, traumatismos craneoencefálicos, esclerosis múltiple, polineuropatías...) • Aumento de la presión intracraneal: Posiblemente debido al aumento de flujo sanguíneo cerebral • Aumento de la presión intraocular: Efecto ciclopléjico (peligroso en glaucoma severo o perforación ocular) • Reacciones graves: <ul style="list-style-type: none"> ○ Reacciones anafilácticas y anafilactoides ○ desencadenante de hipertermia maligna en personas susceptibles
BNM NO DESPOLARIZANTES BENCILISOQUINOLEÍNICOS	<ul style="list-style-type: none"> • Relacionados con la liberación de histamina: (fundamentalmente con atracurio, en menor intensidad con mivacurio²⁷ y casi inexistente con cisatracurio²⁸) <ul style="list-style-type: none"> ○ Enrojecimiento de la piel²⁹ ○ Hipotensión³⁰ (por efecto de la histamina ya que el efecto vagolítico es prácticamente nulo) ○ Broncoespasmo³¹ • Interferencia en la respuesta ventilatoria a la hipoxia: Debida a la depresión neuronal dosis-dependiente de los receptores nicotínicos de Ach del cuerpo carotídeo.^{32,33}
BNM NO DESPOLARIZANTES ESTEROIDEOS	<ul style="list-style-type: none"> • Efectos sobre el aparato cardiovascular: Aumento de la frecuencia cardíaca, presión arterial media e índice cardíaco³⁴, especialmente con gallamina y pancuronio³⁵ (en mucha menor medida con vecuronio y rocuronio), por: <ul style="list-style-type: none"> ○ Efecto vagolítico ("atropina like"³⁶) ○ Efecto simpaticomimético sobre la liberación de noradrenalina o bloqueo de su recaptación.³⁷ Debido a este mecanismo el pancuronio puede desencadenar arritmias malignas (especialmente en condiciones de hipoxia y asociación a fármacos como el digital o el halotano³⁸) • Relacionados con la liberación de histamina: <ul style="list-style-type: none"> ○ Broncoespasmo y alteraciones hemodinámicas: son muy raras, aunque se han descrito.³⁹⁻⁴¹ Con rapacuronio la incidencia es mayor (14%) pero parece deberse a un mayor bloqueo de los receptores M2 o a la no inhibición de los receptores M3.⁴² • Interferencia en la respuesta ventilatoria a la hipoxia: Debida a la depresión neuronal dosis-dependiente de los receptores nicotínicos de Ach del cuerpo carotídeo.^{32,33,43,44}

Tabla 2: Efectos farmacológicos de los BNM con mayor relevancia clínica.

2.2.4. Monitorización del efecto de los Bloqueantes Neuromusculares

2.2.4.1. Generalidades

- *Ventajas e información obtenida al monitorizar*

La monitorización del bloqueo muscular permite la obtención de información objetiva sobre el curso temporal del efecto de los BNM, por lo que es altamente recomendable y aumenta la seguridad del paciente debido a múltiples factores:

- Permite ajustar la dosis en función de:
 - Variabilidad interindividual (edad, peso, patología coexistente...)
 - Variabilidad en el nivel de relajación que precisan las distintas intervenciones.
- Permite la evaluación del grado de bloqueo en un momento determinado:
 - Tiempo de inicio de acción
 - Optimización del tiempo de reversión
 - Optimización del tiempo de repetición de dosis
- Permite evaluar la posibilidad de relajación residual. Especialmente por:
 - Posibles complicaciones respiratorias
 - Tiempos de recuperación (sobre todo importantes en cirugía mayor ambulatoria)
- De gran ayuda en:
 - Diagnóstico diferencial de la depresión respiratoria
 - Diagnóstico diferencial de miopatías.
 - Diagnóstico de sensibilidad anormal a la SC y bloqueos en fase II
 - Interacciones farmacológicas

- ***Condiciones que afectan a la medición***

La base de la monitorización consiste en provocar un potencial de acción mediante la aplicación de un estímulo eléctrico (mediante un estimulador de nervio periférico) y posteriormente registrar la magnitud de la respuesta muscular obtenida. Existen una serie de condiciones que afectan a este registro, según su localización:

- Estimulador del nervio periférico

El estimulador de nervio periférico (ENP) ideal ha de ser firme, liviano, fácil de utilizar y debería funcionar con batería, disponiendo de una señal de bajo nivel de carga (**Figura 7**).



Figura 7: Estimulador de nervio periférico.

- Características del estímulo

Frecuencia: En estímulo simple (twitch) debería ser de 0.1 Hz (1 estímulo cada 10 segundos) o menor, ya que a frecuencias mayores la respuesta muscular disminuye gradualmente (agotamiento por el bloqueo de los receptores presinápticos).

Tipo de onda: Para evitar una estimulación repetitiva, la duración debe ser de 0.2 a 0.3 milisegundos⁴⁵ (inferior al período refractario de la UNM), y tener las características de monofásica y rectangular (onda cuadrada).

Corriente y voltaje: La intensidad del estímulo ha de ser supramáxima, es decir, aquella que recluta a todas las unidades motoras del nervio correspondiente. Por razones de seguridad en la práctica clínica ha de ser inferior a 80 mA. El ENP debe mantener una corriente constante y no un voltaje constante.

- Interfase estimulador-paciente:

Piel: Se ha de preparar adecuadamente: limpieza con alcohol dejando secar, rasurado...(Figura 8). La disminución de la resistencia atenúa la quemadura y el dolor. La temperatura debería ser $>32^{\circ}$ (tapar si es necesario). Se han de evitar zonas con edema.



Figura 8: Preparación de la piel.

Electrodos: Los ideales han de ser desechables y con una pequeña superficie de contacto. Han de estar separados entre ellos por 3-6 cm. (Figura 9)

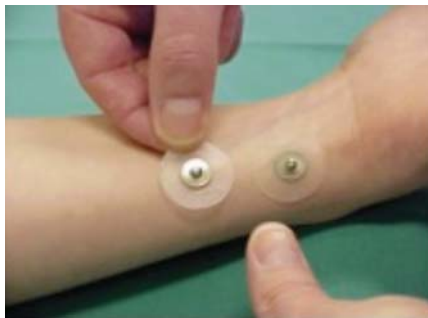


Figura 9: Colocación de electrodos.

- Lugares de estimulación:

Los diferentes grupos musculares difieren entre sí en cuanto a la sensibilidad a los BNM. Las causas son diversas, aunque básicamente se trata de diferencias a nivel del flujo sanguíneo, temperatura, densidad de receptores y distinto margen de seguridad de cada grupo muscular.¹⁴

Aunque la respuesta a la estimulación del nervio facial presenta un comportamiento parecido a la de los músculos respiratorios,⁴⁶ habitualmente la primera prioridad como lugar de estimulación suele ser el nervio cubital por tratarse de un nervio accesible a la estimulación y por la posibilidad de medición de la respuesta de una forma sencilla y fiable.¹⁴ Habitualmente se establecen las siguientes prioridades:

Primera prioridad: Nervio cubital (electrodos a nivel de la muñeca).
Respuesta: Adducción del pulgar y flexión de índice y meñique.⁴⁷
(Figura 10)

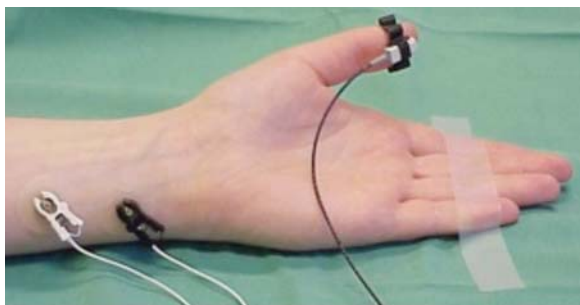


Figura 10: Estimulación del nervio cubital.

Segunda prioridad: Nervio facial (electrodos por encima y por debajo del canto del ojo). Respuesta: Contracción del músculo orbicularis oculi y del músculo corrugator supercilii.⁴⁸ **(Figura 11)**

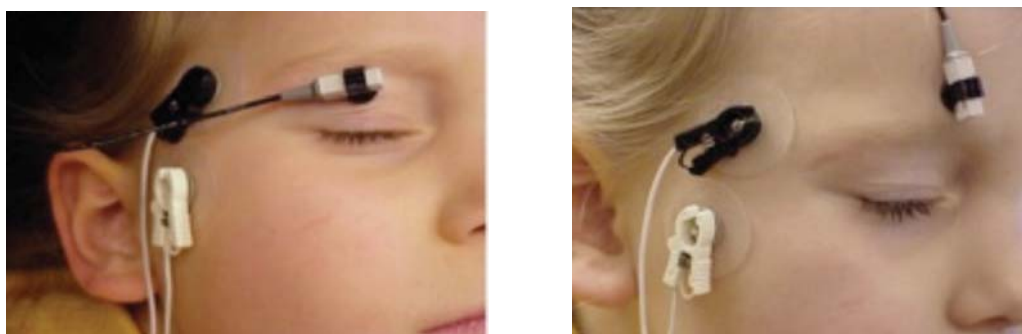


Figura 11: Estimulación del nervio facial.

A la izquierda respuesta del músculo orbicularis oculi. A la derecha respuesta del músculo corrugator supercilii.

Tercera prioridad: Nervio tibial posterior (electrodos por detrás del maleolo interno). Respuesta: Flexión plantar del pie. (**Figura 12**)



Figura 12: Estimulación del nervio tibial posterior.

2.2.4.2. Respuesta a los patrones de estimulación

Las respuestas a los diferentes patrones de estímulo durante las distintas fases del bloqueo neuromuscular son (véase **Tabla 3**)⁴⁹⁻⁵¹:

- Durante la fase de inducción del bloqueo: desaparición de la respuesta al estímulo simple (twitch) o desaparición de las cuatro respuestas del tren de cuatro (TOF).
- Durante el bloqueo intenso: No hay respuesta al estímulo del TOF ni al Contaje Postetánico (PTC), por tanto no es posible cuantificar el grado exacto del efecto.
- Durante el bloqueo profundo: No hay respuesta al estímulo del TOF pero sí al PTC.
- Durante el bloqueo moderado: Hay 1, 2 o 3 respuestas al estímulo del TOF.
- Durante la reversión: Hasta que no se aprecie agotamiento en el estímulo de doble ráfaga (DBS) o en el TOF-ratio.


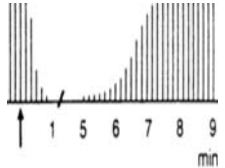
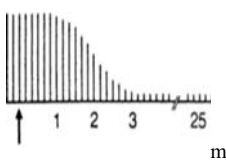

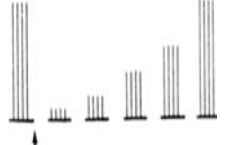
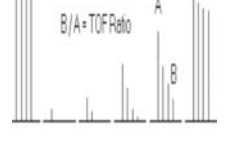
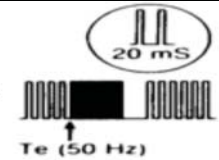
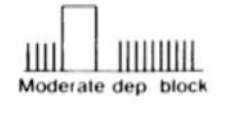
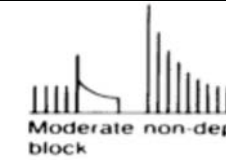
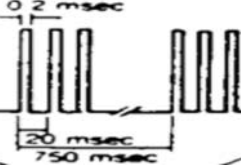
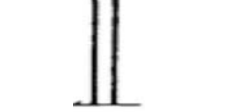
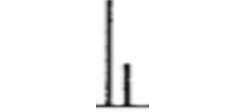
PATRÓN DE ESTIMULACIÓN	FORMA DE APLICAR EL ESTÍMULO	RESPUESTA CON BNMD	RESPUESTA CON BNMND	VENTAJAS	DESVENTAJAS	OTROS COMENTARIOS
ESTÍMULO SIMPLE (TWITCH)	0.1–1.0 Hz. 			- Permite definir parámetros neuromusculares como el tiempo de inicio, duración clínica, índice de recuperación...*	- Precisa calibración previa.	- Utilidades clínicas: Determinación estímulo supramáximo, inicio de acción, diagnóstico diferencial básico de patología neuromuscular.
TREN DE CUATRO (TOF)				- Permite definir el TOF ratio.** - No precisa calibración previa. ⁵² - Poco doloroso y no altera la transmisión neuromuscular	- Poco útil en bloqueos profundos.	- Utilidades clínicas: Monitorización rutinaria de la profundidad del bloqueo, diagnóstico de bloqueo residual, correlación con índices clínicos de recuperación...
ESTIMULACIÓN TETÁNICA	Estímulos supramáximos a frecuencias de 50, 100 o 200 Hz	Se mantiene la contracción mientras dura el estímulo.	La contracción sufre un decaimiento ⁵³	- Posibilita la potenciación posttetánica (PPT) durante 1 min aproximadamente.	- Es doloroso (nunca con paciente despierto)	- La PPT produce un aumento en la concentración de Ca ²⁺ presináptico lo que supone un aumento en la liberación de Ach con estímulos posteriores.
CONTAJE POSTETÁNICO (PTC)				- Muy útil en bloqueos profundos.	- Es doloroso (nunca con paciente despierto) - Altera la transmisión neuromuscular (realizar cada 6 min o más).	- Para cada BNM existe una correlación inversamente proporcional entre el PTC y el tiempo que transcurrirá antes de obtener la primera respuesta del TOF ⁵⁴
DOBLE RÁFAGA (DBS)				- Permite definir el DBS ratio.*** - Permite la detección táctil o visual del bloqueo residual ⁵⁵	- La ausencia de agotamiento no excluye la posibilidad de bloqueo residual.	-La evaluación táctil del DBS es superior a la evaluación táctil del TOF.

Tabla 3: Patrones de estimulación: definición, respuestas en presencia de BNMD y BNMND y ventajas e inconvenientes.

*,** y ***: Véanse definiciones en el apartado siguiente. BNMD = BNM Despolarizante, BNMND = BNM No Despolarizante, Sec = segundos, Min = minutos

- A. **Tiempo de primera inhibición (lag time):** Tiempo transcurrido desde la administración del fármaco y la caída de un 5% de la altura del twitch en relación a la respuesta obtenida con un estímulo supramáximo. Según el gráfico, tiempo desde el inicio hasta que aparece la respuesta roja.

- B. **Tiempo de latencia:** Tiempo transcurrido desde la administración del BNM y la caída de un 25% de la altura del twitch en relación a la respuesta obtenida con un estímulo supramáximo. Según el gráfico, tiempo desde el inicio hasta que aparece la respuesta verde.

- C. **Tiempo de bloqueo máximo (onset):** Tiempo comprendido desde la administración del BNM y el efecto máximo *observable*. Según el gráfico, tiempo desde el inicio hasta la desaparición de las respuestas.

- D. **Duración clínica eficaz (DUR 25):** Tiempo transcurrido entre la administración y la recuperación del 25% de la contracción muscular. Suele coincidir con la reaparición de la tercera respuesta del TOF. Según el gráfico, tiempo desde el inicio hasta que aparece la respuesta azul.

- E. **Índice de recuperación:** Tiempo comprendido entre la recuperación del 25 y el 75% de la contracción muscular. Según el gráfico, tiempo entre la respuesta azul y la amarilla.

- F. **Duración noventa (DUR 90):** Tiempo transcurrido entre la administración y la recuperación del 90% de la contracción muscular. Según el gráfico, tiempo desde el inicio hasta que aparece la respuesta naranja.

- *Parámetros definidos después de la administración de un BNM no despolarizante seguida de la estimulación mediante el patrón TOF*

TOF ratio o relación del Tren de Cuatro o cociente T4/T1:

Cociente entre la amplitud de la cuarta respuesta y la amplitud de la primera. En ausencia de bloqueo no despolarizante, las cuatro respuestas son iguales por lo que el TOF-ratio es de 1. En presencia de bloqueo no despolarizante, esta relación es menor de 1. Este fenómeno se conoce como “agotamiento” o “fade” y se debe al bloqueo de los receptores nicotínicos presinápticos encargados de favorecer la liberación de Ach del pool de reserva. Este bloqueo provoca que la contracción muscular sea cada vez menor. El grado de agotamiento depende de la magnitud del bloqueo, de la frecuencia y duración de la estimulación y del intervalo con que es aplicada. Es un parámetro muy útil en la fase de recuperación. (Figura 14).

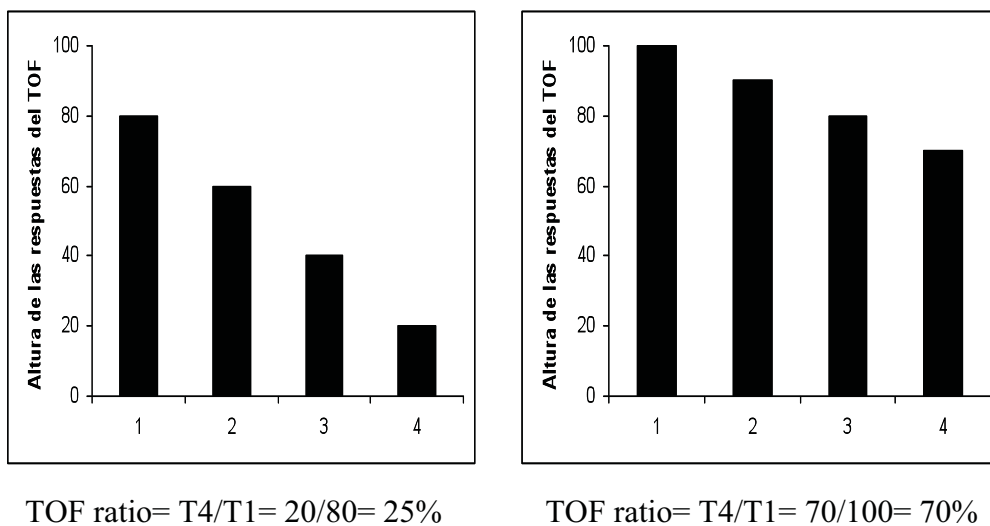


Figura 14: Definición de TOF ratio y presentación de 2 ejemplos.

T1%:

Relación entre la amplitud de la primera respuesta del TOF y la respuesta supramáxima (calculada en ausencia de BNM). Es un parámetro muy útil en la fase de inducción del bloqueo. Si tenemos en cuenta la altura del T1%, se pueden definir los siguientes indicadores:

- Indicadores relacionados con el inicio del efecto:

- **T1_{10%}:** Tiempo para alcanzar el T1% correspondiente al 10% del valor basal. Es dosis-dependiente (a mayor dosis, menor T1_{10%}).
- **T_{PE} (time to “Peak Effect”):** Tiempo para alcanzar el efecto máximo. Es dosis-independiente.⁵⁶

- Indicadores relacionados con la duración y la recuperación del efecto:

- **“Duration T1_{25%}”:** Tiempo hasta alcanzar la recuperación de la respuesta hasta el 25% respecto del T1% basal. Es equivalente a la duración clínica eficaz (DUR 25) definida en el apartado anterior.
- **“Offset T1_{25%-75%}”:** Tiempo transcurrido desde el momento en que la respuesta se recupera al 25% respecto del T1% basal hasta que la respuesta corresponde al 75% de la basal. Es equivalente al índice de recuperación definido en el apartado anterior.

- *Parámetros definidos después de la administración de un BNM no despolarizante seguida de la estimulación mediante el patrón PTC*

El **Contaje postetánico (PTC)** es un parámetro de gran ayuda en los bloqueos profundos. El número de estímulos simples que se pueden contar después de una PPT se correlaciona de forma inversa con el tiempo que transcurrirá hasta obtener la primera respuesta del TOF. : (**Figura 15**).

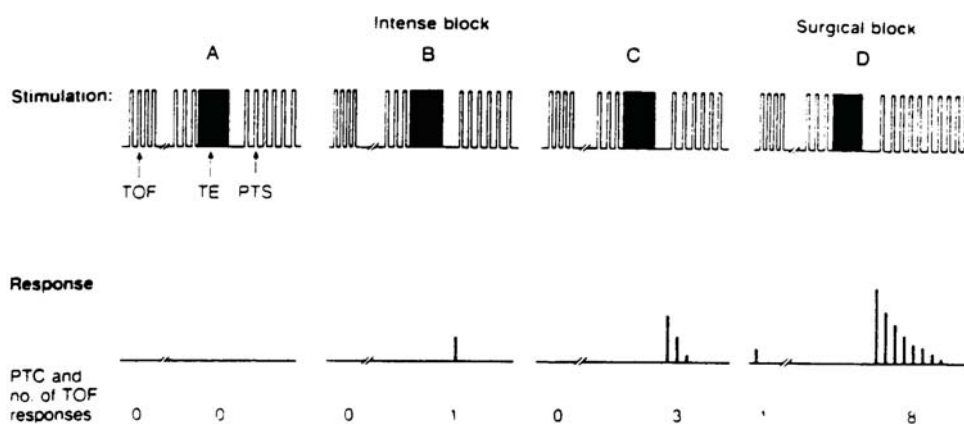


Figura 15: Panel superior: representación gráfica de la estimulación tetánica seguida de estímulos simples. Panel inferior: representación gráfica de la respuesta obtenida (TOF y PTC) tras estimular en un momento con BNM intenso y con BNM moderado o quirúrgico.

Figura reproducida del “Curso sobre Monitorización del Neuromuscular”, con el consentimiento del autor.⁴

- *Parámetros definidos después de la administración de un BNM no despolarizante seguida de la estimulación mediante el patrón DBS*

Finalmente después de un DBS se define el parámetro **DBS-ratio** como el cociente entre la amplitud de segunda respuesta del DBS y la amplitud de la primera (**Figura 16**). Medidos mecánicamente, el TOF ratio y el DBS ratio han de coincidir.

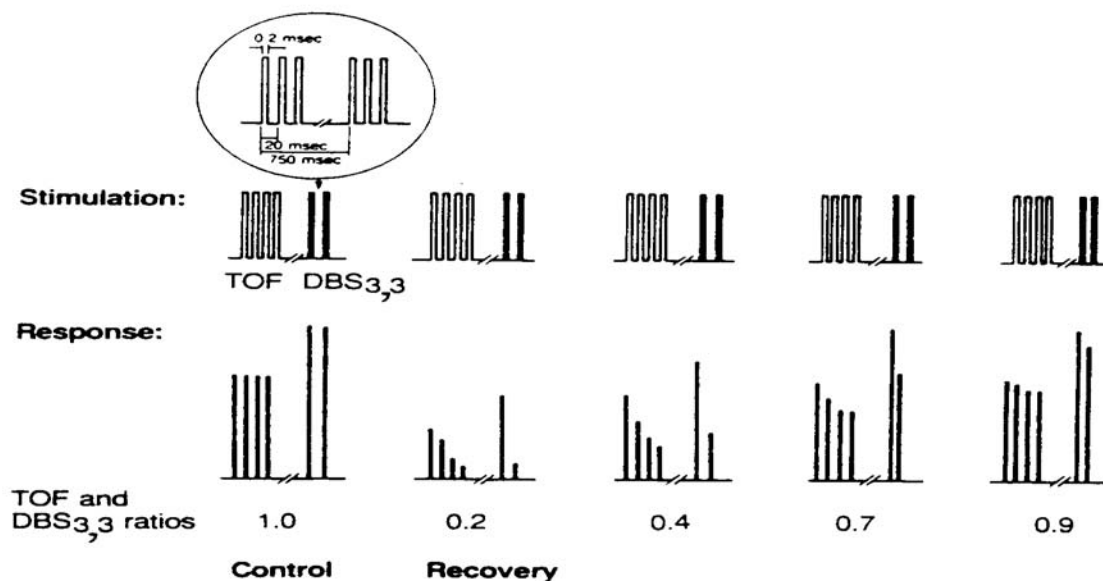


Figura 16: Panel superior: representación gráfica del patrón de estimulación TOF y DBS_{3,3}. Panel inferior: representación gráfica de las respuestas obtenidas (TOF ratio y DBS ratio) en el momento basal y a lo largo de la recuperación del BNM.

Figura reproducida del “Curso sobre Monitorización del Neuromuscular”, con el consentimiento del autor.⁴

2.2.4.4. Sistemas de registro

La respuesta obtenida se puede registrar de diferentes formas. Véase la **Tabla 4**, a continuación:






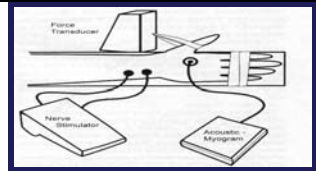
SISTEMAS DE REGISTRO ⁵⁷	FIGURA	BASES	VENTAJAS	DESVENTAJAS
EVALUACIÓN SUBJETIVA		- Incluye la evaluación clínica (levantar la cabeza, función visual, hablar, toser...) y la observación clínica y/o táctil tras un TOF o DBS.	- Es el sistema más sencillo y barato.	- Realmente no es un "sistema de registro" ya que al ser un método subjetivo no es posible el registro con objetividad (es inespecífico)
MECANOMIOGRAFÍA (MMG)		- Cuantificación de la contracción isométrica muscular, gracias a la medición directa de la fuerza de la contracción mediante un transductor. ⁵⁸	- Medición directa de la fuerza de la contracción.	- Método voluminoso y complejo de aplicación en la clínica habitual. - Fijación compleja de la mano (es esencial la contracción isométrica)
ACELEROMIOGRAFÍA (AMG)		- Basado en la segunda ley de Newton: ⁵⁰ $Fuerza = Masa \times Aceleración$ - Un transductor piezoeléctrico mide la aceleración angular del dedo que es proporcional a la fuerza (ya que la masa del dedo es constante)	- Más sencillo y menos voluminoso que la MMG y la EMG.	- Importante la colocación de férulas que eviten mediciones erróneas.
ELECTROMIOGRAFÍA (EMG)		- Análisis de la señal eléctrica generada por un potencial de acción muscular. - La amplitud de dicha señal es directamente proporcional al número de unidades motoras contraídas. ⁵⁹	- Permite monitorizar varios grupos musculares. - Menor afectación por movimientos que otros sistemas. ¹⁴	- Colocación engorrosa de los electrodos.
CINEMIOGRAFÍA (KMG)		- Basado en la medición del desplazamiento de los dedos (similar a la AMG)	- Más sencillo y menos voluminoso que la MMG y la EMG.	- Importante la colocación de férulas que eviten mediciones erróneas.
FONOMIOGRAFÍA (PMG)		- Basado en los sonidos de baja frecuencia que emite la contracción de fibras musculares. Se propagan por la piel generando ondas que se pueden registrar con micrófonos adecuados. - La amplitud de estas ondas se correlaciona con la fuerza de la contracción. ^{60,61}	- Sencillo de utilizar en los músculos superficiales.	- La medición del efecto no es paralela a la obtenida con MMG.

Tabla 4: Sistemas de registro.

2.2.5. Bromuro de Rocuronio

El rocuronio pertenece al grupo de BNM aminoesteroideos. Se trata de un BNM de uso común en la clínica diaria, ya que ofrece ventajas respecto a otros (latencia, ausencia de metabolitos...). Sus características principales son las siguientes (**Tabla 5**):

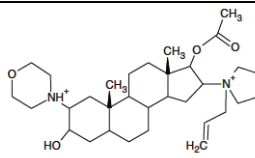
BROMURO DE ROCURONIO	
Síntesis por primera vez	1989, Muir ⁶²
Introducción en clínica	1993
Estructura química	 <ul style="list-style-type: none"> • Bromuro de 1-(17β-acetoxi-3α-hidroxi-2β-morfolino-5α-androstano-16β-il)-1-alil pirrolidino. C₃₂H₅₃BrN₂O₄ • Es un derivado del vecuronio: difiere en tres posiciones del núcleo esteroideo y no contiene el fragmento “Ach-like”. Por este motivo es 5 veces menos potente (más lipofílico).
Presentación	<ul style="list-style-type: none"> • Ampollas de 5 y 10 ml (cada ml contiene 10 mg) • Solución estable debido a la sustitución del grupo acetato, unido al anillo A, por un grupo hidroxilo. • Su pH es de 4 (puede aparecer dolor a la inyección).
Peso molecular	546 Daltons ⁶³
Vd _{SS} (ml·kg ⁻¹)	220 ± 43 ⁶⁴ Menor que el del vecuronio ⁶³
Cl (ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹)	5,1 ± 1,1 ⁶⁴
Metabolismo y eliminación	<ul style="list-style-type: none"> • Captación hepática, eliminación biliar • Sólo entre un 15-25% de la dosis administrada se encuentra en orina de 24 horas⁶⁵⁻⁶⁸ • Ausencia de metabolitos medibles en plasma, orina o bilis. • La acumulación depende de la dosis administrada y de su distribución y eliminación. La insuficiencia hepática avanzada prolonga el tiempo de vida media β.¹⁴
DE ₉₅	0,3 mg·kg ⁻¹ ⁶⁹
Tiempo de latencia	<ul style="list-style-type: none"> • Menor que el del vecuronio: 33 ± 13 segundos⁶⁴ • Esto se debe a la baja potencia: al precisar dosis mayores se origina un importante gradiente de concentraciones entre plasma y biofase.
Onset	En torno a 1,5 minutos (menor que el vecuronio) aunque es variable en función del autor ^{67,68,70-84}
Duración 25%	En torno a 30 minutos (similar al vecuronio) aunque es variable en función del autor ^{11,85-88}

Tabla 5: Características principales del bromuro de rocuronio.

Vd_{SS}: Volumen de distribución en estado de equilibrio. Cl: Aclaramiento plasmático.
 DE₉₅: Dosis eficaz 95: Es la dosis necesaria para producir un efecto determinado en el 95% de la población.⁸ En el caso de los BNM se considera que 2 DE₉₅ es la dosis necesaria para producir la relajación de las estructuras anatómicas y permitir una adecuada intubación traqueal siempre que el tiempo sea también el adecuado.¹⁸ Onset: Tiempo de bloqueo máximo.

2.3. Interacción de los fármacos antiepilépticos con los Bloqueantes Neuromusculares.

De entre el amplio abanico de agentes anticomiciales, uno de los más comúnmente utilizados en la práctica clínica es la fenitoína o difenilhidantoína. La fenitoína, se sintetizó por primera vez en 1908 por Heinrich Biltz y fue aprobada por la FDA en 1953 para el tratamiento de las convulsiones. Su mecanismo de acción consiste en bloquear los canales de Na^+ voltaje dependientes (efecto estabilizador del umbral de membrana), de forma que inhibe la propagación de la actividad convulsivante en la corteza motora cerebral. Debido a este bloqueo sobre los canales de Na^+ en las células del miocardio, también tiene propiedades como agente antiarrítmico. Además de actuar sobre la conductancia del Na^+ , también lo hace sobre el K^+ y el Ca^{2+} alterando de esta forma los potenciales de membrana. Por otro lado interfiere en las concentraciones de ciertos aminoácidos y neurotransmisores como la Ach y ácido gamma-aminobutírico. Se considera que los niveles plasmáticos terapéuticos son entre 10 y 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. El porcentaje de unión a proteínas es del 90%. Si la concentración es elevada también puede tener efectos relacionados con la serotonina, noradrenalina y dopamina. Entre los efectos secundarios neurológicos más comunes se encuentra el nistagmo horizontal y el exantema cutáneo. A dosis tóxicas puede producirse ataxia cerebral, oftalmoparesia y falta de coordinación y confusión de origen cerebeloso. A nivel sistémico puede aparecer hiperplasia gingival, linfadenopatía, hirsutismo y osteomalacia. Está considerado como un fármaco potencialmente teratógeno. En el apartado de interacciones farmacológicas destacan los aumentos de sus niveles por dicumarol, sulfamidas...y disminución de sus niveles por fármacos como la carbamazepina y el fenobarbital.²

La interacción entre la fenitoína y el efecto de algunos BNM puede tener un componente PK (actuando fundamentalmente sobre el metabolismo de los BNM) y/o PD (con una actuación directa del anticomicial sobre la UNM). Es muy importante destacar que esta acción es completamente distinta en función de si la administración de la fenitoína es aguda o crónica (al menos durante una semana de tratamiento).^{5,89,90}

Los pacientes que reciben anticomiciales de forma aguda presentan un incremento del efecto del bloqueo no despolarizante.⁹¹⁻⁹³ Los mecanismos exactos que

producen este incremento del efecto todavía no están claros pero podrían tener una explicación plausible basada fundamentalmente en el ámbito PD.⁹² El mecanismo de acción de la fenitoína sobre la UNM parece ser complejo.^{5,93} Entre los diferentes mecanismos descritos en la literatura destacan: efecto a nivel presináptico y postsináptico,⁹⁴ efecto estabilizador de membranas⁹⁵ y reducción en la síntesis y liberación de Ach.⁹⁶⁻¹⁰⁰

Por otro lado, los pacientes que reciben Terapia Crónica con Fenitoína (TCF) presentan una resistencia al efecto de los BNM no despolarizantes.¹⁰¹ Esta interacción no se produce con todos los BNM no despolarizantes, sino que parece producirse especialmente con los derivados esteroideos. (**Tabla 6**) Se han reportado dos posibles mecanismos para explicar esta resistencia al efecto:⁹³

- **Mecanismo PK.** Existen dos posibles explicaciones:
 - **Incremento del metabolismo hepático y aclaramiento por inducción enzimática.**

El bromuro de rocuronio se elimina mayoritariamente de forma no modificada por la orina o la bilis,^{5,65} pero existe un 10% que es metabolizado a formas hidrofílicas mediante decarboxilación. Presumiblemente una subunidad del sistema citocromo P₄₅₀ (Citocromo P₄₅₀3A4)⁵ es la encargada de esta decarboxilación, aunque este punto todavía no está confirmado. Los fármacos antiepilépticos son potentes inductores enzimáticos del sistema microsomal en el hígado, ya que incrementan la actividad metabólica del Citocromo P₄₅₀. Concretamente la fenitoína induce a los siguientes enzimas: Citocromo P₄₅₀2C, Citocromo P₄₅₀3A y uridina difosfato glucuronosiltransferasa (generalmente incrementando la transcripción de esos genes específicos) mientras que inhibe al Citocromo P₄₅₀2C9.^{5,102,103} La inducción de las enzimas responsables del aclaramiento (“clearance”) del bromuro de rocuronio producirían un incremento de dicho aclaramiento.

- **Incremento de la unión a proteínas, que tiene como resultado una disminución de la fracción libre de fármaco.**

La α 1-glicoproteína ácida (AAG) es una proteína encargada de unir a muchos fármacos catiónicos, incluyendo los BNM no despolarizantes.⁵ Un incremento en los niveles de AAG podría suponer una disminución de la fracción libre de rocuronio y, por tanto, una disminución en su efecto farmacológico.

- **Mecanismo PD:**

Se producirían cambios a nivel del RnAch¹⁰⁴, que se traducirían en una disminución de la sensibilidad. Esto conllevaría un fenómeno de “up regulation”,¹⁰⁵ es decir, un sobrecrecimiento de receptores a lo largo de toda la membrana citoplasmática de la célula muscular, de forma que al existir más RnAch para bloquear la dosis necesaria es mayor.

Parece bastante claro que el papel del mecanismo PK es fundamental en el desarrollo de la resistencia al efecto, mientras que existe cierta discrepancia en el papel que desarrolla el mecanismo PD, y depende de los autores. Por ejemplo, Wright et al⁹⁰ encuentran alteraciones a nivel PK y PD, mientras Szenohradszky et al¹⁰⁶ únicamente hablan de alteraciones a nivel PK y Soriano et al⁵ concluyen en su revisión que la contribución de las alteraciones PD sobre esta resistencia no está absolutamente confirmada en humanos. El papel que juega la unión a proteínas también es discutido en función de los resultados obtenidos por diferentes autores. Así, en la bibliografía existente, se encuentran trabajos que muestran correlación entre los niveles de AAG y las concentraciones de fenitoína o con la duración de su terapia,^{107,108} mientras que otros no encuentran dicha correlación.¹⁰⁹⁻¹¹¹ Soriano et al⁵ piensan que el rol de la unión a proteínas debería ser clínicamente insignificante, puesto que la fracción unida a proteínas en el caso de los BNM no despolarizantes es menor del 20%.

ESTUDIO			INTERACCIÓN		
AUTORES	BNM	ANTICOMICIAL		PK	PD
Jellish et al (1993) ¹¹²	Pipecuronio	Varios	Sí		
Ornstein et al (1991) ¹¹³	Doxacurio	Carbamazepina y Fenitoína	Sí		
Roth et al (1987) ¹¹⁴	Pancuronio	Carbamazepina	Sí		
Hickey et al (1988) ¹¹⁵	Pancuronio	Fenitoína	Sí		
Liberman et al (1988) ¹¹⁶	Pancuronio	Fenitoína	Sí		
Tempelhoff et al (1990) ¹¹⁷	Atracurio	Varios	Sí		
Spacek et al (1997) ¹¹⁸	Atracurio	Carbamazepina	No		
Ornstein et al (1987) ¹⁰¹	Atracurio	Fenitoína	No		
Ornstein et al (1987) ¹⁰¹	Vecuronio	Fenitoína	Sí		
Whalley et al (1994) ¹¹⁹	Vecuronio	Carbamazepina	Sí	Sí	
Alloul et al (1996) ¹²⁰	Vecuronio	Carbamazepina	Sí	Sí	
Wright et al (2004) ⁹⁰	Vecuronio	Fenitoína	Sí	Sí	Sí
Szenohradzky et al (1994) ¹⁰⁶	Rocuronio	Fenitoína	Sí	Sí	
Driessen et al (1998) ¹²¹	Rocuronio	Ácido Valproico	Sí	Sí	
Baraka et al (1996) ¹²²	Rocuronio	Carbamazepina	Sí		
Spacek et al (1999) ¹²³	Rocuronio	Carbamazepina	Sí		
Hernández-Palazón et al (2001) ¹²⁴	Rocuronio	Fenitoína	Sí		
Spacek et al (1996) ¹²⁵	Mivacurio	Carbamazepina	No		
Jellish et al (1996) ¹²⁶	Mivacurio	Varios	No		
Koenig et al (2000) ¹²⁷	Cis-Atracurio	Varios	Sí		
Richard et al (2005) ¹²⁸	Cis-Atracurio	Carbamazepina y Fenitoína	Sí	Sí	Sí

Tabla 6: Interacción de la Terapia Crónica con Anticomiciales con diferentes BNM según diferentes autores.

En aquellos casos en los que existe interacción y además ha sido estudiada en el trabajo, se especifica si es a nivel PK y/o PD.

2.4. Relación entre dosis, concentraciones plasmáticas y tisulares y efecto.

2.4.1. Aplicación de los modelos PKPD.

2.4.1.1. Definición de modelo. Compartimento del efecto

Para poder estudiar el curso temporal del efecto de los fármacos en un sistema biológico es necesario comprender la disposición de los mismos en dicho sistema (farmacocinética o PK) y la relación de la concentración plasmática y del punto donde ejerce su acción (biofase) con el efecto que producen (farmacodinamia o PD).¹²⁹ Se trata de un proceso muy complejo que depende de la dosis administrada, de los mecanismos de absorción, distribución, biotransformación y eliminación del fármaco así como también de la llegada del mismo a la biofase y de la cadena de cambios que se producen a este nivel para acabar constituyendo el efecto farmacológico.

Para comprender mejor todo este proceso se emplean modelos que son representaciones de la realidad. Un modelo PKPD permite definir la estructura común que caracteriza la relación entre el fármaco administrado y sus efectos mediante ecuaciones matemáticas cuyo objetivo es establecer la relación entre la PK y la PD del fármaco estudiado. Una vez construido, además de ayudar a entender los mecanismos que gobiernan la relación entre el fármaco y el organismo y los factores que pueden afectarla, un modelo permite predecir el nivel de efecto producido por diferentes dosis de este fármaco.¹³⁰

Las ecuaciones matemáticas que definen el modelo de disposición pueden ser expresadas de forma que posean cierto significado biológico. Se puede asumir que los tejidos del organismo estén agrupados de acuerdo con su vascularización y, por tanto, la llegada de fármaco a ese hipotético grupo. Estos grupos de tejidos pueden considerarse como “compartimentos” con una cierta capacidad (volumen de distribución) y comunicados entre sí (aclaramiento). Cada uno de ellos, representa el espacio teórico con características similares en relación al fármaco estudiado y está definido por un volumen y un aclaramiento (coeficiente de depuración para dicho fármaco en ese compartimento). De esta forma, si el fármaco únicamente se distribuye en el plasma, un

modelo monocompartimental serviría para caracterizar su comportamiento, si el curso temporal de las concentraciones sugiere dos fases diferenciadas, se puede decir que la distribución se produce en dos compartimentos y si es en tres, el modelo sería tricompartmental. En el caso de los fármacos anestésicos la mayoría de ellos se distribuyen de forma que un modelo tricompartmental con entrada de fármaco en y eliminación de fármaco desde el compartimiento central describe su comportamiento (**Figura 17**).

Brodie demostró a mediados del siglo pasado la importancia de relacionar los efectos de los fármacos con sus niveles plasmáticos en lugar de hacerlo con su dosificación.¹³¹ A partir de entonces, se han ido desarrollando modelos PKPD para tratar de explicar esta relación entre concentración plasmática y efecto de una forma integrada.¹³²⁻¹³⁹ Sin embargo, resulta obvio, que el lugar donde los fármacos ejercen su acción no es el compartimiento central, excepto para grupos farmacológicos como por ejemplo los anticoagulantes, ya que entonces los efectos seguirían una curva paralela a las concentraciones plasmáticas y la realidad indica la presencia de histeresis (o desfase) entre concentraciones plasmáticas y efecto farmacológico. La hipótesis del “compartimento del efecto” o “biofase” permite enfocar y resolver este problema asumiendo que debe existir un compartimiento vinculado al compartimiento central y de mínimo volumen de distribución si se compara con éste, cuya transferencia de fármaco desde el compartimiento viene gobernada por una constante de primer orden. Esta aproximación permite caracterizar el desfase entre plasma y efecto mediante la estimación de las concentraciones aparentes en la hipotética biofase, concentraciones que se relacionan de forma directa e inequívoca con el efecto farmacológico.¹³⁶

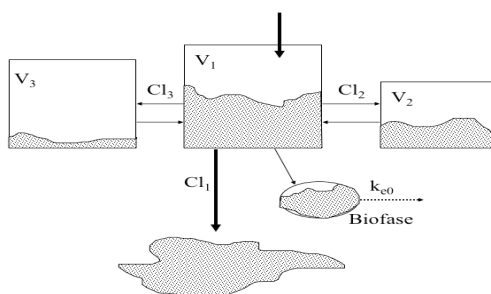


Figura 17: Distribución de fármaco en el organismo, de acuerdo a un modelo tricompartmental asociado a un compartimento del efecto.¹³⁶

V_1 = volumen de distribución del compartimento central; V_2 = volumen de distribución en el primer compartimento periférico; V_3 = volumen de distribución en el segundo compartimento periférico; Cl_1 = Aclaramiento de eliminación, Cl_2 = Aclaramiento del compartimento central al primer periférico, Cl_3 = Aclaramiento del compartimento central al segundo periférico. k_{e0} = microconstante de transferencia desde el compartimento del efecto al exterior

Las concentraciones plasmáticas vs tiempo, se definen mediante la siguiente ecuación multiexponencial:

$$C_p(t) = \sum_{n=1}^j A_n \cdot e^{-\lambda_n t}$$

donde $C_p(t)$ es la concentración plasmática en el tiempo t , λ_n es el exponente del término n -ésimo ($\lambda_1 > \lambda_2 \dots > 0$), A_n es el coeficiente del término n -ésimo y j es el número de compartimentos.

La concentración en el compartimento del efecto (C_e) se modifica según constantes cinéticas de primer orden y se calcula por integración de la siguiente ecuación:

$$\frac{dC_e}{dt} = k_{1e} V_p C_p - k_{e0} V_e C_e$$

donde dC_e/dt representa la concentración en la biofase a lo largo del tiempo, k_{e0} es la constante que define la salida de fármaco desde el compartimento del efecto, k_{1e} es la constante de llegada desde el compartimento central hasta el compartimento del efecto, C_p es la concentración en el compartimento central y C_e la concentración en el compartimento del efecto o biofase, V_e es el volumen de distribución en el compartimento del efecto que por definición es mucho más pequeño que el del compartimento central y por eso no puede considerarse como un compartimento periférico independiente¹³⁶ y V_p el volumen de distribución en el compartimento central.

Dado que el compartimento del efecto se define como un compartimento con un volumen infinitamente pequeño, la cantidad de fármaco en él es insignificante en comparación a la concentración en el compartimento central.¹³⁶ Por esto, la anterior ecuación puede simplificarse:

$$\frac{dC_e}{dt} = k_{e0} (C_p - C_e)$$

donde dC_e/dt representa la concentración en la biofase a lo largo del tiempo, donde k_{e0} es la constante que define la salida de fármaco desde el compartimento del efecto, C_p es la concentración en el compartimento central y C_e la concentración en el compartimento del efecto o biofase.

Una vez estimada la concentración aparente en el compartimento del efecto, es posible establecer una relación clara y directa con el efecto inducido. En el caso de los BNM, el efecto (altura del twitch) se puede relacionar con la concentración en el compartimento del efecto mediante la ecuación de Hill¹⁴⁰ o del modelo sigmoideo E_{\max} :

$$E = E_0 + (E_{\max} - E_0) \frac{C_e^\gamma}{C_e^\gamma + C_{e50}}$$

donde, E representa el efecto (entre 100% sin efecto y 0% máxima inhibición de la contracción, según la altura del twitch en el caso de los BNM), E_{\max} la máxima intensidad del efecto, E_0 el efecto basal cuando no hay fármaco, C_e es la concentración de BNM en la biofase, C_{e50} representa la concentración que produce el 50% del efecto máximo posible y el exponente γ la pendiente de la curva concentración/efecto o coeficiente sigmoideal.

2.4.1.2. Aproximación poblacional.

Cualquier variable biológica que quiera ser estudiada en una población, y más cuando nos referimos a la complejidad del organismo humano, va a implicar cierto grado de variabilidad entre los diferentes individuos estudiados (interindividual) así como dentro del mismo individuo si se repitieran las mediciones en el mismo sujeto (intraindividual) en función del momento en que es estudiada. Por tanto, para caracterizar una variable biológica, es necesario medir la magnitud típica de la variable en sí misma y su variabilidad inter e intraindividual. La aproximación poblacional permite estimar, a través de mediciones precisas de muestras de la(s) variable(s) a estudio, el valor representativo del parámetro en la población y su variabilidad asociada. La aproximación poblacional tiene en cuenta la contribución de cada individuo en la construcción del modelo sin establecer sesgos debidos a un mayor número de datos por un individuo concreto.

De esta forma, la observación que nosotros realizamos es igual a la predicción que hace el modelo, ajustado en función de las magnitudes de las variabilidades inter e intraindividual, según se representa en la siguiente ecuación:

$$y_{ij} = f((\theta + \eta_i), x_{ij}) + \varepsilon_{ij}$$

donde y_{ij} representa la observación “j” de la variable “y”, variable dependiente, en el individuo “i”; $f((\theta + \eta_i), x_{ij})$ es la curva parametrizada que describe el valor esperado para la respuesta predicha por el valor de “x” (variable independiente) en la observación “j” del individuo “i” modificado por el vector del parámetro θ , que a su vez es modificado por el factor η_i ; θ es el vector del parámetro que identifica la forma de la relación entre “x” e “y” para un individuo típico; $\eta_i = (0\text{-variación media})$ de θ . En toda la población existe un único valor para cada parámetro estructural θ . Cada valor individual del parámetro estructural (θ_i) está determinado por las modificaciones de θ en función de η_i . η_i representa a la variabilidad interindividual y sus valores para cada individuo de la población tienen la media 0 y una distribución normal. La varianza de η es ω^2 y su desviación estándar es ω . $\varepsilon_{ij} = (0\text{-media})$ del error medido (intraindividual).

Para cada individuo su valor es aleatorio pero presenta una distribución normal con media = 0. La varianza de ε es σ^2 y su desviación estándar σ .¹³⁰

Si es posible, también se puede detectar la influencia de determinados factores covariables (peso, talla, edad...) en los parámetros del modelo (volúmenes de distribución, aclaramiento, C_{e50} ...). Con toda esta información, se pueden ajustar las pautas de dosificación para alcanzar y conseguir el nivel de efecto terapéutico deseado teniendo en cuenta las características propias de cada individuo. Este tipo de modelos han sido descritos para otros fármacos empleados en anestesiología como es el caso de opioides¹⁴¹⁻¹⁴³, hipnóticos^{144,145} y diferentes BNM^{90,146-148}

2.4.1.3. Métodos estadísticos. NONMEM.

Existen tres aproximaciones distintas al análisis de datos provenientes de diferentes individuos para estimar los valores representativos de la población. La **Tabla 7** los resume:

	ANÁLISIS “TWO-STAGE”	ANÁLISIS “NAIVE POOLED”	ANÁLISIS NO LINEAR DE EFECTOS MIXTOS (NONMEM)
Naturaleza del análisis	Modelo estructural descriptivo para cada individuo. Posteriormente los parámetros son promediados estadísticamente.	Modelo estructural descriptivo en el que se ajustan los datos de todos los individuos como si provinieran del mismo sujeto.	Modelo estructural descriptivo en el que se ajustan los datos de todos los individuos, utilizando la variabilidad inter e intraindividual
Requerimientos en el diseño del estudio	Necesario un diseño riguroso	No esencial un diseño riguroso	Riguroso o no riguroso
Cantidad de datos requeridos	Contribución similar para cada individuo	Depende	Puede haber diferente cantidad de datos de cada individuo
Calidad de la estimación del parámetro para un individuo típico			
Estructural	Disponibile	Disponibile	Disponibile
Variabilidad	Puede ser sobreestimada	No Disponible	Disponibile
Estimaciones individuales	Disponibile	No Disponible	Disponibile (aproximación Bayes)

Tabla 7. Métodos para el análisis de los datos obtenidos para una población de individuos.¹³⁰

El análisis no lineal de efectos mixtos (NONMEM) fue introducido en análisis farmacológico por Sheiner y Beal en 1979.¹⁴⁹ En este método se asume que el perfil del individuo ha de ser similar al de la población. Así, se asume que el valor de un parámetro individual variaría en forma de distribución normal con media igual al valor poblacional. Presenta como ventajas principales las siguientes:

- Cuando se combina con el análisis bayesiano, no requiere los datos suficientes de cada individuo para estimar los parámetros estructurales de forma independiente.¹⁵⁰
- Es posible estimar la varianza y covarianza para todas las estimaciones de los parámetros. Por este motivo, es posible determinar la precisión de cada parámetro en forma de error estándar o intervalo de confianza.
- Proporciona el valor “verdadero” para cada parámetro estructural en la población.¹⁵¹

Como desventaja se podría mencionar la complejidad de cálculo que podría hacer más laborioso el proceso de estimación y ajuste del modelo a los datos aunque el desarrollo tecnológico y la mayor potencia de los ordenadores han simplificado grandemente este proceso.¹³⁰

2.4.2. Aplicación de la microdiálisis.

La microdiálisis es una técnica cuantificación que permite medir la cantidad de sustancias (fármacos o mediadores biológicos) presentes en un tejido o área anatómica concreta, siendo posible realizarlo en diversas localizaciones a la vez y obtener muestras con relativa frecuencia. Desde su aparición en 1974 en un trabajo de Ungerstedt y Pycock¹⁵² y la primera publicación en 1987 sobre la aplicación de la microdiálisis en humanos,¹⁵³ ha sido utilizada para evaluar la cantidad de fármaco que alcanza un órgano específico, tejido o localización,¹⁵⁴⁻¹⁵⁷ especialmente a nivel del tejido cerebral.¹⁵⁸⁻¹⁶⁰ Ha sido introducida en la investigación clínica farmacológica como método para cuantificar concentraciones tisulares de fármaco.¹⁶¹⁻¹⁶³ Recientemente, algunos autores han empleado esta técnica para detectar y cuantificar rocuronio en el tejido muscular animal.^{164,165}

El fundamento de esta técnica es similar al de la diálisis renal, ya que permite el intercambio de solutos a través de una catéter o sonda provista de una membrana semipermeable, en ambas direcciones en función de la orientación de sus gradientes de concentración.¹⁶⁶⁻¹⁶⁹ Los solutos en cuestión, han de ser más pequeños que los poros de la membrana semipermeable para que sea posible el paso a su través. Por este motivo habitualmente el peso molecular de los mismos no debería ser superior a 50 KDa.¹⁶³ Así pues, para la realización de esta técnica, se debe insertar una pequeña sonda en la región específica que se desea estudiar.¹⁶⁹ Dicha sonda consta de un microtubo de entrada y otro de salida que acabará finalizando en un microvial para la recogida de muestras. Mediante una bomba de perfusión conectada al microtubo de entrada, se inyecta a la velocidad escogida (habitualmente de 0,1 a 5 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$)¹⁶⁷, un líquido estéril e isotónico que sirve para captar el agente a estudio desde el tejido a la sonda por un proceso de difusión, el cual quedará recogido en el microvial situado a la salida del circuito, constituyendo el microdializado (**Figuras 18 y 19**)



Figura 18: Material de microdiálisis.

A la izquierda, se muestra el sistema de microdiálisis (bomba, catéter y microtubo de recogida) antes de la colocación en el paciente. A la derecha, detalle del microtubo con la muestra obtenida.

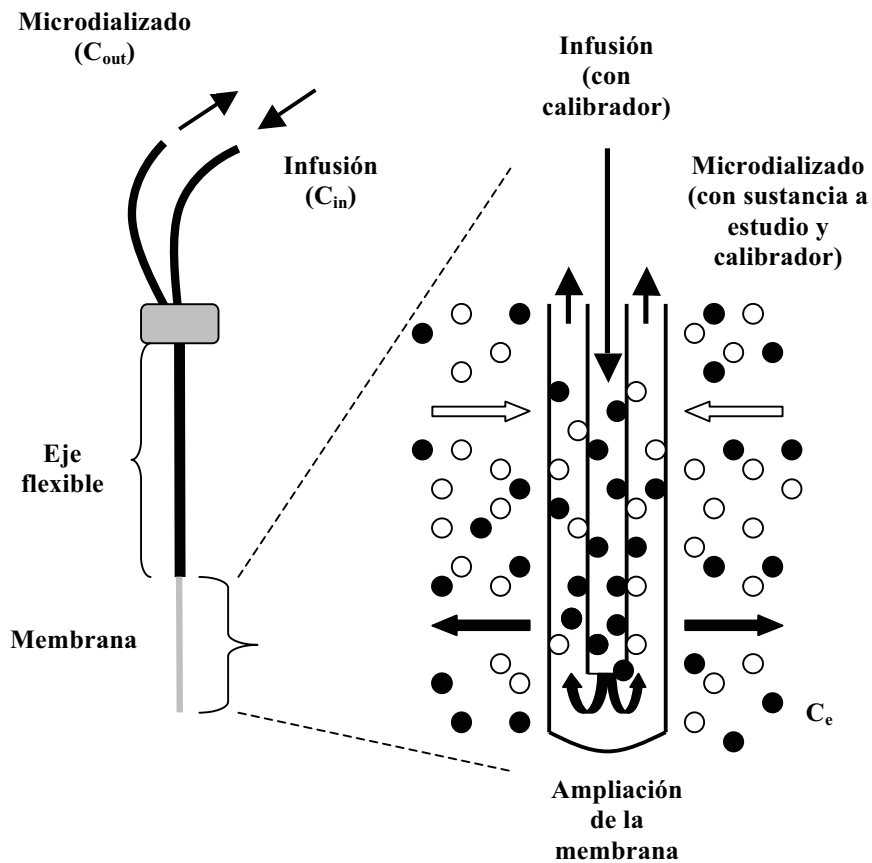


Figura 19: Esquema del diseño de una sonda de microdiálisis.

C_{in} es la concentración de sustancia infundida, C_{out} es la concentración de sustancia en el microdializado y C_e es la concentración de sustancia en el fluido extracelular que se encuentra en las inmediaciones de la sonda

Figura Adaptada de Chaurasia et al¹⁶⁶

La concentración de sustancia obtenida en el microdializado en estado de equilibrio, es habitualmente una fracción de la sustancia que se encuentra libre en el tejido extracelular, es decir, que puede difundir. Es lo que se conoce como “Recuperación Relativa”. En este sentido, se ha de tener en cuenta la “Capacidad de Recuperación” o “Fracción de Extracción” del Sistema, es decir, la cantidad de sustancia que el sistema es capaz de recuperar. La Fracción de Extracción (FE) en equilibrio, se define de la siguiente forma:

$$FE = \frac{C_{out} - C_{in}}{C_e - C_{in}}$$

donde C_{in} es la concentración de sustancia infundida, C_{out} es la concentración de sustancia en el microdializado y C_e es la concentración de sustancia en el fluido extracelular que se encuentra en las inmediaciones de la sonda.^{166,167} La Recuperación Relativa es aquel caso especial en que la FE presenta una $C_{in} = 0$, es decir, cuando no se infunde sustancia a estudio en el sistema de microdiálisis, sino que únicamente se recupera del medio, la Recuperación Relativa y la FE coinciden. Para poder determinar la FE, es necesario realizar una calibración previa. Para ello, los sistemas más frecuentemente utilizados son: Método “low-flow rate”, Método “no-net flux”,¹⁵³ Método “dynamic no-net flux”¹⁷⁰ o la Retrodiálisis^{171,172} (el más común, especialmente en humanos).¹⁶⁸ Teóricamente, es posible calcular de una forma muy aproximada la concentración real de sustancia en el tejido utilizando la siguiente fórmula:

$$CTR = \frac{CM}{FE}$$

donde CTR es la concentración tisular real, CM es la concentración en el microdializado y FE es la fracción de extracción.

La FE del sistema puede verse afectada por una serie de factores. En experimentos “In Vitro” los factores más importantes son: la velocidad y composición del líquido infundido o de perfusión (generalmente, a más velocidad de perfusión, menos Recuperación Relativa), la temperatura (una temperatura elevada, incrementaría la recuperación)¹⁶⁷, la composición y superficie de la membrana de la sonda (un incremento en la superficie de la membrana, incrementaría la recuperación)¹⁶⁷ y las propiedades físico-químicas de la sustancia a analizar. Cuando se utiliza la microdiálisis “In Vivo” se han de añadir otros factores, entre los que destacan: el tejido donde se implanta la sonda, el posible daño en el tejido secundario a la implantación y la difusión del fármaco a través del fluido intersticial del tejido.¹⁶⁷ Todos estos condicionantes podrían ocasionar discrepancias entre las recuperaciones “In Vitro” e “In Vivo” como han mostrado diferentes autores.^{167,173} Por otro lado, en ocasiones requiere trabajar con concentraciones en el microdializado próximas al límite de detección con la metodología de cuantificación actualmente disponible.

La técnica de la microdiálisis ofrece una serie de ventajas y de limitaciones (**Tabla 8**):¹⁶⁶

VENTAJAS	LIMITACIONES
Altamente dinámica	Requiere entrenamiento de la habilidad
Alta resolución de la muestra a tiempo real	Requiere inserción de la sonda (mínimo daño tisular)
Más de un metabolito en una muestra	Compra material (condicionante económico)
Muestra purificada (no unida a proteínas)	Precisa análisis específico
Recogida sencilla de la muestra	Problemas inherentes al fármaco a estudiar
Mínimamente invasiva	Fármacos lipofílicos
Múltiples localizaciones en un animal/persona	Fármacos con alta unión a proteínas
Altamente reproducible	Dificultad para estimar el nivel tisular exacto
Permite el uso de técnicas auxiliares de forma simultánea	La recuperación es tejido y tiempo dependiente

Tabla 8: Ventajas y limitaciones de la microdiálisis.

La microdiálisis ofrece un nuevo punto de vista para la dosificación farmacológica, ya que permite cuantificar la cantidad de fármaco que alcanza un tejido concreto. La medición de fármacos en su lugar de acción (biofase) es muy compleja, especialmente en los fármacos de acción central. Hasta el momento, la aproximación más frecuentemente utilizada para abordar la concentración de fármaco “aparente” en biofase, se basaba en modelos PKPD y consiste en una abstracción matemática en la cual se emplea el modelo del compartimento del efecto, (precisa una medición ajustada del efecto a estudiar), siendo la k_{e0} la constante que define la salida de fármaco desde el compartimento del efecto. En el caso de los BNM, es posible la medición directa en el intersticio muscular, lugar muy cercano a su biofase, gracias a la microdiálisis.¹⁶⁵ El desarrollo de la microdiálisis y su progresiva introducción en el terreno de la farmacología, permite pensar que al ser posible cuantificar directamente el nivel de fármaco en el órgano diana, tal vez sea posible la validación o el rechazo del concepto de biofase. En todo caso, lo que sí está claro es que permite la comparación entre las concentraciones directas en el intersticio muscular y las predichas por los modelos.¹⁶⁴ Una posible aplicación de esta técnica es estudiar si la TCF afecta mediante un mecanismo PK y/o PD al efecto de los fármacos BNM.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

En base a lo expuesto anteriormente podemos formular la siguiente **hipótesis** de trabajo:

La resistencia a los efectos BNM del bromuro de rocuronio en pacientes tratados de forma crónica con fenitoína se debe a mecanismos farmacocinéticos y/o farmacodinámicos.

Los **objetivos** son los siguientes:

1. Definir la relación entre dosis, concentración y efecto de bloqueo neuromuscular inducido por el rocuronio mediante modelos PKPD.
2. Caracterizar la influencia que el tratamiento crónico con fenitoína tiene en el PKPD del rocuronio.
3. Discernir la causa de la influencia de la fenitoína en la resistencia a los efectos del rocuronio mediante el empleo de microdiálisis.
4. Validar el concepto de biofase o compartimento del efecto para el rocuronio.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Preparación previa del doctorando

Para realizar una correcta familiarización con la técnica de la microdiálisis y para el análisis de datos, se han llevado a cabo **dos estancias en el extranjero**:

En Septiembre de 2003, realicé una estancia en el laboratorio del **Prof. Dr. Jorn Lötsch**, en Pharmazentrum, Institut, für Klinische Pharmakologie. Wolfgang Goethe University, Frankfurt (**Alemania**). En dicha estancia obtuve unos conocimientos indispensables a la hora de poner en marcha el proyecto, ya que se hizo especial hincapié en las aplicaciones de la microdiálisis tisular en estudios PK y PD. Este grupo alemán está reconocido como uno de los centros pioneros en el uso de la microdiálisis y su aplicación en estudios PKPD y tiene numerosos trabajos publicados en este sentido^{174,175}.

En Septiembre de 2004, realicé una estancia en Anesthesiology Dpt, Stanford University School of Medicine, Stanford, California (**USA**), donde asistí a un curso titulado “Pharmacokinetic and Pharmacodynamic analysis with NONMEM”, de 20 horas de duración, cuya finalidad principal fue la familiarización con el análisis de datos de estudios PK y PD con la perspectiva poblacional mediante análisis no lineal de efectos mixtos (programa NONMEM) que impartía el **Prof. S.L. Shafer**. Este tipo de análisis es el que mejor explica los datos obtenidos en un estudio como el nuestro y está avalado por numerosas publicaciones en la literatura^{141,176}.

4.2. Diseño del estudio

La realización de un trabajo de investigación clínica con BNM precisa de un diseño previo óptimo para que se puedan extrapolar y comparar de forma adecuada las conclusiones que se obtengan del mismo. Para obtener este diseño es preciso analizar previamente las guías de consenso existentes en la literatura sobre la buena práctica clínica en estudios de la PK y la PD de los BNM. En este sentido, hemos recogido las revisiones más recientes y completas en relación al aspecto PK¹⁷⁷ y PD¹⁷⁸ así como también sobre la microdiálisis.

4.2.1. Diseño PK

En la revisión de consenso sobre PK y BNM¹⁷⁷, se establece una guía para tratar de unificar y homogeneizar las principales características que definen un trabajo correcto en este ámbito. Entre las más importantes, se encuentran las siguientes:

- Diseño y objetivos del estudio: dependiendo de si se trata de un fármaco nuevo, interacción entre dos o más fármacos, unión a proteínas, relación entre PK y PD...
- Características de los pacientes del estudio: demografía, criterios de inclusión y exclusión, patología concomitante...
- Administración, muestreo y técnica de determinación y análisis del fármaco.
- Análisis PK: correcta selección de los datos, variables y parámetros. También es fundamental la correcta selección del modelo PK y el software para realizar el análisis PK y la necesidad de realizar una validación correcta del análisis de datos así como del modelo obtenido.
- Integración de un modelo PKPD, si fuese el caso: definición del modelo PD, unión entre modelos, modelos del error...
- Análisis PK poblacional: “standard two-stage PK analysis”, “Naive pooling of data”, análisis no lineal de efectos mixtos (NONMEM)...
- Estadística: diseño, poder del análisis, especificación del modelo, estimación, software...
- Aplicaciones clínicas de los datos PK obtenidos.

En el primer trabajo que presentamos¹⁷⁹ se utilizó como base dicha guía de consenso. El bromuro de rocuroonio no se trata de un fármaco nuevo, lo que ha permitido una amplia revisión de la literatura existente hasta la fecha para tratar de orientar los objetivos. La interacción de los BNM y los antiepilépticos ha sido descrita con anterioridad en numerosos trabajos (Véase **Tabla 6**), aunque nunca hasta la fecha se ha descrito una interacción entre el bromuro de rocuroonio y la fenitoína desde un análisis de modelos poblacionales PKPD. Se ha conseguido una rigurosa aproximación a la PK y PD de dicho fármaco en presencia y ausencia de TCF.

Los pacientes incluidos en dicho estudio iban a ser sometidos a craneotomía y tenían que estar en tratamiento con fenitoína como único agente antiepiléptico durante al menos 7 días, según la definición de TCF aportada por diversos autores.^{89,90} Este criterio de inclusión supuso un inconveniente a la hora de reclutar pacientes ya que en la actualidad no es difícil que los pacientes precisen de más de una medicación antiepiléptica de forma simultánea para controlar su sintomatología y por otro lado, la aparición de otros fármacos anticomiciales de más fácil manejo y administración ha ido desplazando a la fenitoína como fármaco de elección por parte de algunos especialistas. Los criterios de exclusión fundamentales fueron la insuficiencia renal y hepática. Se recogió la patología concomitante de cada uno de los pacientes reclutados.

En base a información publicada sobre el modelo PK del rocuroonio,¹⁰⁶ se realizaron simulaciones que permitieron concluir que la forma óptima de administrar el fármaco a estudio era en bolus y perfusión continua y la extracción de las muestras plasmáticas debería realizarse en los tiempos 1.5, 3, 6, 10, 30, 60, 120, 180 minutos después del bolus y a los 10, 30, 60 y 120 minutos después del inicio de la hemostasia. La cuantificación del rocuroonio en estas muestras plasmáticas se hizo mediante la técnica de cromatografía de alto rendimiento¹⁸⁰ y el único lugar de Europa donde podía llevarse a cabo era en Gröningen (Holanda). Este hecho tenía implicaciones económicas y de manejo de las muestras muy importantes, ya que era preciso ser muy escrupuloso en la conservación para no perder la cadena del frío y de esta forma prevenir el consiguiente error en la determinación.

En base a la amplia bibliografía existente^{81,138,181,182}, se decidió que el abordaje óptimo de los datos obtenidos era mediante el análisis no lineal de efectos mixtos (NONMEM). Se trata de un análisis de datos complejo que ha precisado de la realización de un curso en USA, como ya se ha comentado, para la correcta utilización y

aplicación del software, así como la definición de los parámetros que acabarían definiendo el modelo.

Para poder corroborar que este complejo protocolo de actuación era posible en la realidad clínica de un quirófano, se llevaron a cabo varios casos piloto que permitieron adecuar el diseño teórico a la práctica de una intervención quirúrgica en humanos, cosa que supuso un coste adicional de recursos y tiempo. Las consideraciones económicas (envío de muestras, determinación del rocuroonio...) y temporales (dificultad para reclutar a pacientes con la fenitoína como único antiepiléptico, tiempo hasta disponer de resultados...) han supuesto un hándicap importante a la hora de realizar este estudio, ya que ambas cosas imposibilitaron el análisis de un mayor número de muestras.

Para la explicación de la aplicación clínica, véase el apartado siguiente. Los detalles referentes a la metodología (tipo de anestesia empleada, determinación de la concentración plasmática de fenitoína, análisis estadístico...) se recogen en el primer artículo publicado cuyo texto se reproduce en la sección correspondiente.¹⁷⁹

4.2.2. Diseño PD

En la revisión de consenso sobre PD y BNM¹⁷⁸, se establece una guía para tratar de definir las características principales que ha de tener el diseño de un trabajo que pretenda estudiar el efecto de los fármacos BNM. Entre las más importantes destacan:

- Características de los pacientes, anestesia y forma de administración del fármaco: demografía, criterios de inclusión y exclusión, bolus y/o infusión continua...
- Monitorización: preparación de la piel, colocación de los electrodos, definición de los patrones de estimulación, temperatura, calibración y obtención del estímulo supramáximo, estabilización de la señal, inmovilización del sistema...
- Equipo y método de cuantificación del efecto: mecanomiografía, electromiografía, acelerometría, fonomiografía...
- Diseño de los estudios dosis-respuesta: bolus, perfusión, ambos, así como de los métodos estadísticos empleados.
- Monitorización del inicio de acción (p. Ej para la intubación traqueal), curso temporal del efecto...

En relación a la monitorización del efecto (PD), tal y como queda reflejado en el apartado farmacodinamia del Material y Métodos de nuestro primer trabajo,¹⁷⁹ la preparación de la piel, colocación de los electrodos, mantenimiento de la temperatura, inmovilización de la extremidad, calibración y obtención del estímulo supramáximo, se realizaron de acuerdo con la guía presentada.¹⁷⁸

De entre los numerosos sistemas de cuantificación del efecto de los BNM en trabajos clínicos⁴⁹ (descritos en detalle en el apartado 2.2.4. de la introducción de esta tesis doctoral), se escogió la EMG (**Figuras 20, 21 y 22**) por ser sencilla de instalar, muy fiable y no afectarse con los movimientos tan fácilmente como los otros métodos.^{14,57} Tal y como describen Fuchs-Buder et al¹⁷⁸ en esta guía de buena práctica clínica, en muchas ocasiones, la recuperación del efecto no se produce de forma total, es decir, hasta los valores existentes antes de la administración del bloqueante neuromuscular (basales). Este fenómeno es común y precisa un proceso denominado “Normalización” para la interpretación correcta de los resultados. La Normalización consiste en considerar el último valor estable de T1% (cuando ya no existe bloqueo residual) como el valor de referencia o basal (no siempre coincide con el 100%). Los demás valores de bloqueo residual deben calcularse en relación a este último valor. Por otro lado, se ha de tener en cuenta que, independientemente del sistema de registro utilizado, existen variaciones en la respuesta con respecto al control a medida que avanza el tiempo de monitorización y disminuye la temperatura del músculo.¹⁸³

Las características de los pacientes, así como las características propias de la dosificación del bromuro de rocuronio, se han descrito en el apartado anterior.

Por último, todas estas mediciones del efecto y los resultados obtenidos de forma global con la presentación de ambos trabajos, no tendrían sentido sin tener una aplicación a la práctica clínica diaria. Por este motivo, en nuestro primer artículo¹⁷⁹ se hace especial hincapié en la necesidad de obtener resultados de relevancia clínica (clinically relevant endpoints), es decir, puntos importantes y de relevancia en cuanto al uso diario de estos fármacos. Para ello, ha sido precisa la realización de numerosas simulaciones utilizando PKPDTools for Excel¹⁸⁴, un conjunto de funciones creadas para realizar cálculos farmacológicos complejos en el contexto del programa de hoja de cálculo Excel. Mediante la determinación del tiempo de inicio del efecto, tiempo de efecto máximo y los tiempos de recuperación del efecto, sería posible comparar qué ocurre tras un bolus de rocuronio en un paciente tratado de forma crónica con fenitoína y en otro paciente sin esta terapia.



Figura 20: Detalle de la colocación de los electrodos de EMG.



Figura 21: Detalle del monitor de quirófano, donde se observa la medición de la respuesta del BNM.

Se puede apreciar que la determinación se realizaba cada 20 segundos y que se obtenía el número de respuestas del TOF, así como el valor del T1% y del TOF%.

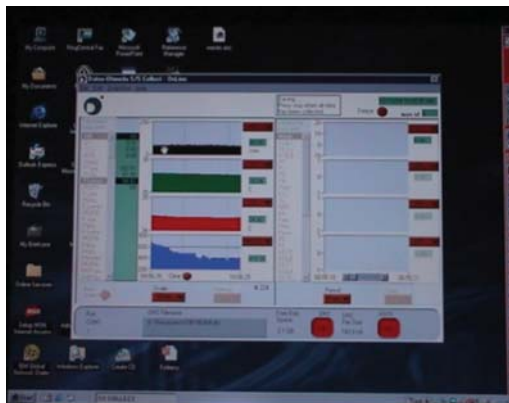


Figura 22: Detalle del registro de todas las variables en el monitor del ordenador.

Gracias al programa **S5-Collect v 3.0.**, se registraban en cada paciente con una resolución de un segundo, la frecuencia cardíaca, la presión arterial media, la temperatura central y periférica, la saturación de oxígeno, el índice biespectral (BIS), el número de respuestas del TOF y la magnitud de las mismas, el T1% y el TOF%. También se registraba el momento exacto en el que se extraía una muestra (plasmática o de microdializado), el momento exacto en que se modificaba la perfusión de rocuronio o cualquier otro momento en el que se produjera algún incidente destacable.

4.2.3. Diseño Microdiálisis

De forma similar a lo descrito en el PKPD, para el correcto diseño del trabajo relacionado con la microdiálisis, utilizamos las más completas y actuales revisiones sobre este tema. Así, para el estudio de las bases de la microdiálisis y sus aplicaciones hemos prestado especial atención a las revisiones de Chaurasia et al¹⁶⁶ y la posterior actualización de Schmidt et al.¹⁶⁸ Para tratar de establecer una relación entre los resultados obtenidos mediante la microdiálisis y los obtenidos mediante los modelos PK estudiamos las revisiones de Elmquist et al¹⁸⁵ y de Lange et al¹⁶⁷. Por otro lado, como ya se ha comentado, se realizó una estancia en la Facultad de Medicina de la Universidad de Frankfurt, Alemania (Dr. J. Lötsch) para una mejor familiarización con la técnica de la microdiálisis y su aplicación a un entorno clínico.

En las revisiones mencionadas se exponen las siguientes ideas más importantes:

- Principios básicos: técnica, métodos de calibración, afectación al tejido, factores que influyen en la recuperación de los fármacos, limitaciones, consideraciones analíticas...
- Sistemas de calibración
- Utilización de la microdiálisis como descubrimiento y desarrollo de fármacos
- Papel de la microdiálisis en la evaluación de modelos PKPD
- Microdiálisis clínica: aplicación práctica al estudio de diversos fármacos.

En nuestro segundo trabajo presentado¹⁸⁶, se tienen en cuenta una serie de consideraciones derivadas de estas revisiones. En primer lugar resulta obvio que se han de realizar unos experimentos “In Vitro” para calcular cual es la capacidad de recuperación del sistema. Hemos reproducido en un laboratorio el proceso de la microdiálisis de forma que conociendo las concentraciones de rocuronio existentes en el medio, hemos podido determinar qué porcentaje es capaz de recuperar el sistema a diferentes velocidades de infusión de la bomba de microdiálisis. Esta fase experimental ha permitido definir cuál es la velocidad de infusión y el tiempo de extracción de muestras óptimos. Mediante la realización de estos cálculos previos se preveía que la masa de fármaco obtenida podría encontrarse en determinados casos muy cercana al límite de detección. Para el estudio de más detalles de esta primera fase (características

y velocidad de la bomba de perfusión, características de la sonda de microdiálisis, concentraciones de rocuronio en el medio...), consúltese el apartado “In Vitro Study” de la sección Material y Métodos del segundo trabajo).¹⁸⁶

La detección y cuantificación de bromuro de rocuronio en el microdializado tenía que llevarse a cabo en Gröningen (igual que en el caso de las muestras plasmáticas), por tanto, la conservación de las muestras, el transporte sin perder la cadena del frío y el posterior análisis se han de sumar al apartado de dificultades que la técnica conlleva. Por otro lado, según refieren algunos autores^{167,173} existen diferencias “In Vitro” e “In Vivo” que son difíciles de prever. Por todos los motivos anteriormente descritos, sumados al ya comentado de que en determinados casos la masa de rocuronio podía encontrarse próxima al nivel de detección, es posible que en alguna muestra el bromuro de rocuronio sea indetectable.

El último punto en relación a las limitaciones de la microdiálisis se basa en que todo el material relacionado con esta técnica tiene unas consideraciones económicas y de dificultad en su aplicación nada despreciables.

Para el estudio de más detalles referentes a la técnica de la microdiálisis en los pacientes (localización de la sonda, técnica de punción empleada, tiempo entre extracción de muestras...), consúltese el apartado “Clinical Study” de la sección Material y Métodos del segundo trabajo que presentamos.¹⁸⁶ (**Figura 23**)

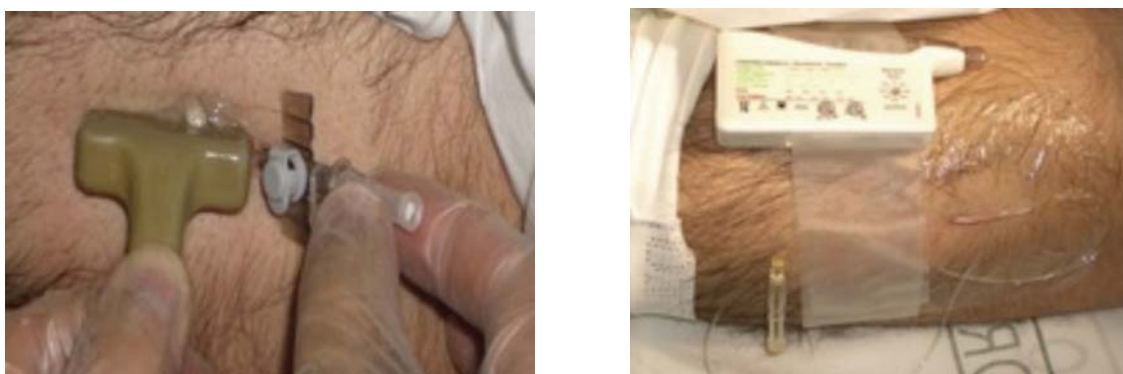


Figura 23: Detalles de la técnica de microdiálisis “In Vivo”.

A la izquierda se muestra la utilización de la ecografía para asegurar la correcta colocación de la sonda en el tejido muscular. A la derecha se muestra el montaje final del sistema en el paciente.

4.3. Análisis de datos. Construcción y evaluación del modelo PKPD

El proceso de modelización permite establecer una relación entre las características individuales de cada paciente, las dosis administradas, las concentraciones plasmáticas del bromuro de rocuronio (PK) y los efectos alcanzados (PD). Todos los datos obtenidos a partir de estas observaciones han sido analizados bajo una aproximación poblacional mediante análisis no lineal de efectos mixtos, utilizando el software NONMEM v5. En el primer paso de dicho análisis se realizó el análisis PK, en una segunda etapa, a partir de los parámetros PK poblacionales obtenidos se estimó el valor de k_{e0} y de los parámetros PD. El modelo PK permite conocer la disposición del fármaco en el plasma. De esta forma, se describen modelos compartimentales según las estimaciones de los siguientes parámetros: volúmenes de distribución (V_1 , V_2 , V_3) y aclaramientos respectivos (Cl_1 , Cl_2 , Cl_3). Para cada uno de dichos parámetros se describen sus correspondientes variabilidades intra e interindividuales. El modelo PD establece una relación entre los distintos parámetros mencionados y el efecto obtenido. En este caso, empleamos la estructura del modelo del compartimento del efecto (biofase). Este modelo PD, también está descrito por una serie de parámetros a los que también se asocia una determinada variabilidad intra e interindividual. El primero de dichos parámetros es la k_{e0} , que es una constante de primer orden que representa cómo se produce la salida de fármaco, en este caso el bromuro de rocuronio, desde el compartimento del efecto al exterior. El segundo parámetro es la C_{e50} , que es la concentración en el lugar de acción en equilibrio, en el momento en que se produce la mitad del efecto máximo. Se trata pues, de una medida de la potencia del fármaco. El tercer parámetro es γ , que es un parámetro sigmoideo que describe la pendiente de la curva que relaciona la concentración de fármaco en la biofase con el efecto obtenido.

Con posterioridad a la obtención de este modelo poblacional básico mediante la utilización de NONMEM, realizamos un análisis Bayesiano que permitió adecuar este modelo básico a cada uno de los individuos estudiados. El análisis bayesiano ajusta los diferentes parámetros de cada uno de los pacientes en función de la realidad poblacional.

La posible influencia de los factores covariables estudiados en los parámetros del modelo PKPD se evaluó de forma automatizada mediante Generalized Additive

Model (GAM approach).^{187,188} De esta forma, se puede detectar qué covariables son estadísticamente significativas sobre cada uno de los parámetros del modelo y se incorporan al modelo básico mediante NONMEM y se estudia si finalmente tienen repercusión en él o no. El modelo se va haciendo cada vez más complejo, reflejando las posibles fuentes de variabilidad y cómo éstas influyen en los parámetros del modelo.

Para poder hacer una correcta evaluación o diagnóstico de cada uno de los modelos obtenidos y de esta forma poder seleccionar el modelo más adecuado, se utilizan principalmente tres herramientas. La primera es la precisión de cada uno de los parámetros estimados en los modelos. Esta precisión se traduce en la fiabilidad de cada uno de los parámetros y se conoce con el nombre de Error Estándar (a mayor Error Estándar o si aparecen valores negativos, peor precisión de la estimación del parámetro). La segunda forma de evaluación permite relacionar de una forma visual las observaciones producidas con las predicciones determinadas por el modelo. Obviamente, cuanto más se asemejen estos valores, mejor explica el modelo los datos obtenidos. En esta inspección visual (“visual inspection of the goodness of fit”) existen dos posibilidades: bondad del ajuste de los emparejamientos y representación en forma de gráficas de residuales. La tercera forma de evaluación de los modelos es la determinación y comparación del valor mínimo de la función objetiva o función de máxima verosimilitud expresada como el valor de -2 veces el logaritmo natural de la verosimilitud ($-2LL$ ó $-2 \log$ likelihood), valor que también proporciona el programa NONMEM. En nuestro caso, se consideró como significativo un descenso de 3.84 puntos en $-2LL$ entre los modelos estudiados.

Una vez evaluados los diferentes modelos obtenidos y seleccionado posteriormente el que mejor se corresponde con los datos recogidos, se ha de realizar una validación del modelo. De las diferentes formas de realizar dicha validación, en nuestro caso utilizamos el “Visual Predictive Check”¹⁸⁹. Con este método, a partir de los valores de los parámetros del modelo y sus respectivas variabilidades, se pueden generar “n” grupos de “y” individuos cada uno con idénticas condiciones que las realizadas en el estudio real. Se estima en la población real un parámetro de relevancia clínica, por ejemplo el tiempo necesario para alcanzar un nivel de efecto concreto, y se calcula en los “n” grupos simulados dicho tiempo. La comparación estadística de los tiempos reales con los estimados en los individuos simulados da una idea de la adecuación del modelo para reflejar los datos obtenidos en la población a estudio.

Cuanto más cercanas sean las medianas y percentiles del modelo y de los sets creados, mejor es la descripción que realiza el modelo de los datos.

Por último, se ha de tener en cuenta que la finalidad del modelo definitivo es su aplicación en la clínica. Por este motivo se definieron unos puntos clínicos relevantes que serían estudiados gracias a los resultados obtenidos. La aplicación del modelo a la práctica diaria en quirófano se realizó gracias al programa PKPDTools for Excel¹⁸⁴ que permite integrar todos estos datos y realizar simulaciones que permitan evaluar los efectos de una dosis de rocuronio en pacientes control o, como en este caso, en pacientes sometidos a TCF. En base a los parámetros estimados según el modelo PKPD, se calcularon una serie de tiempos que describen el curso del efecto del rocuronio. Así, $T_{10\%}$ es el tiempo que tarda la primera respuesta del TOF en caer hasta un 10% en relación al efecto máximo y por ello se trata de un descriptor del inicio del efecto. El $T_{125\%-75\%}$ es el tiempo que tarda en pasar esta respuesta del 25% al 75% en la fase de recuperación y por ello se trata de un descriptor de la recuperación del efecto. Por último, el T_{PE} (Time to Peak Effect) es el tiempo que tarda el efecto en alcanzar su valor máximo desde el momento de la administración. Este valor es independiente de la dosis administrada y por tanto un buen parámetro para establecer comparaciones en la forma de actuación de diferentes fármacos.

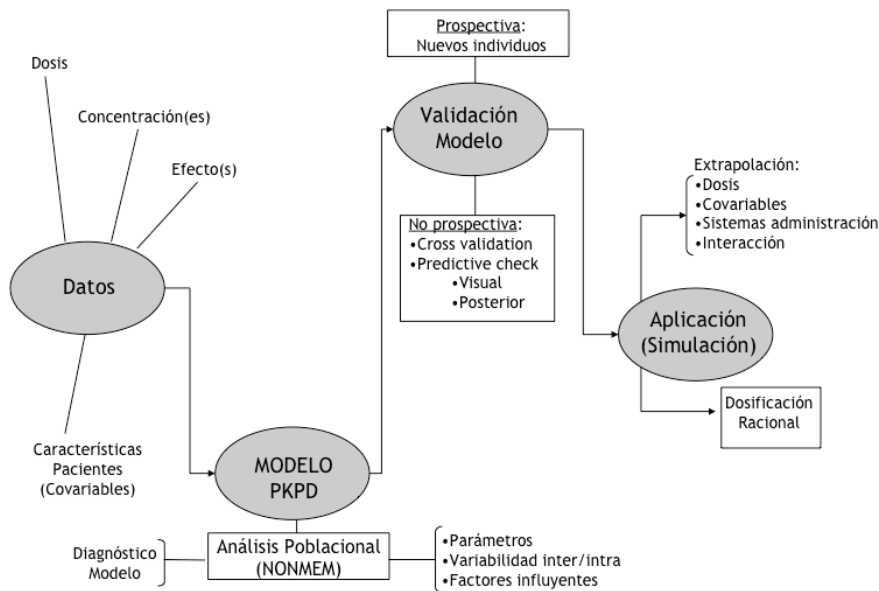


Figura 24: Esquema-resumen del proceso de análisis de datos.

5. RESULTADOS (ARTÍCULOS PUBLICADOS)

5.1. Artículo 1.

Fernández-Candil J., Gambús PL, Trocóniz IF, Valero R, Carrero E, Bueno L, Fábregas N. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the influence of chronic phenytoin therapy on rocuronium bromide response in patients undergoing brain surgery. *European Journal of Clinical Pharmacology* (2008) 64:795-806. (Original)¹⁷⁹. IF 2.5 (2008)

En este artículo, hemos evaluado la influencia de la TCF sobre el PKPD del bromuro de rocuronio desde una perspectiva de análisis basado en modelos poblacionales. Hasta el momento, no se había realizado este tipo de aproximación poblacional para este BNM y este anticomicial en concreto.

Hemos podido concluir que la TCF incrementa el clearance del rocuronio de 0,26 a 0,75 L·min⁻¹ pero sin tener efecto sobre el resto de parámetros PK o sobre los parámetros PD k_{e0} , C_{e50} ó γ .

Pharmacokinetic–pharmacodynamic modeling of the influence of chronic phenytoin therapy on the rocuronium bromide response in patients undergoing brain surgery

Juan Fernández-Candil · Pedro L. Gambús ·
Iñaki F. Trocóniz · Ricard Valero · Enrique Carrero ·
Lorea Bueno · Neus Fábregas

Received: 6 December 2007 / Accepted: 6 March 2008 / Published online: 3 June 2008
© Springer-Verlag 2008

Abstract

Background Antiepileptic drugs decrease the intensity of the effect of neuromuscular blocking agents. The objective of this study was to evaluate the influence of chronic phenytoin therapy (CPT) on the pharmacokinetics (PK) and pharmacodynamics (PD) of rocuronium.

Methods A total of 21 patients undergoing intracranial surgery were enrolled in the study. Ten of these were under CPT. Rocuronium was administered intravenously. Arterial blood samples were drawn, and the T1% (percentage change from the response to the supramaximal stimulus) derived from electromyogram was continuously recorded.

NONMEM software was used to construct, evaluate and validate the PKPD models.

Results The PKPD of rocuronium was described using a three-compartment PK model and effect compartment model. The CPT therapy was found to increase the total plasma clearance from 0.26 to 0.75 L min⁻¹. The PD model parameter estimates were $k_{e0} = 0.073 \text{ min}^{-1}$, IC_{50} (the steady-state plasma concentration eliciting half of the maximum response) = 836 ng mL⁻¹ and $\gamma = 3.13$.

Conclusions: Chronic phenytoin therapy increases the clearance of rocuronium from 0.26 to 0.75 L min⁻¹ but has no effect on the k_{e0} , IC_{50} or γ parameters.

Presented in part at the ASA annual meeting, in Atlanta, GA, on October 22–26, 2005.

J. Fernández-Candil · R. Valero · E. Carrero · N. Fábregas (✉)
Anesthesiology Department, Hospital Clinic,
University of Barcelona,
Barcelona, Spain
e-mail: fabregas@ub.edu

P. L. Gambús
Anesthesiology Department, CIBEREDH, IDIBAPS,
Hospital Clinic, University of Barcelona,
Villarroel 170,
08036 Barcelona, Spain

I. F. Trocóniz · L. Bueno
Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology,
Faculty of Pharmacy, University of Navarra,
Pamplona, Spain

Present address:

J. Fernández-Candil
Anesthesiology Department, Hospital del Mar,
Barcelona, Spain

Keywords Drug interactions · NONMEM ·
Population PKPD · Rocuronium

Introduction

Antiepileptic drugs alter the time course of the effect induced by most neuromuscular blocking agents (NMBA). Therefore, to achieve a defined level of effect, NMBA dosing must be increased in the presence of chronic antiepileptic therapy [1]. It has been reported that a patient receiving chronic phenytoin therapy (CPT) or other antiepileptic drugs may possibly show a so-called “resistance” to the effects of NMBA [2–8]. Such phenomena can be caused by pharmacokinetic (PK) and/or pharmacodynamic (PD) alterations, and the best approach to clarify the mechanism of the “resistance”, is to carry out a PKPD analysis of the time course of the response to NMBA.

Wright et al. used a PKPD analysis to determine the cause of the increase in the dose requirements of

vecuronium in patients receiving phenytoin chronically, which, to the best of our knowledge, is the only work addressing this problem using a population modeling approach. These authors reported that total plasma clearance and IC_{50} (the steady-state plasma concentration eliciting half of the maximum response) were significantly increased in the group of patients chronically medicated with phenytoin [2].

Rocuronium bromide is a non-depolarizing steroidal NMBA. It is mostly eliminated in unchanged form in either urine or bile, with 10% being metabolized to hydrophilic forms by decarboxylation, presumably by CYP3A4, a subunit of the P450 cytochrome system [1], although this mechanism has not been confirmed. The influence of antiepileptic drugs on rocuronium has been studied, but as yet it has not been demonstrated whether the observed increased levels of rocuronium required to maintain a certain degree of neuromuscular blocking effect are attributable to PK or PD mechanisms [6, 9].

The objective of this project was to study the PK and PD of rocuronium bromide in the presence or absence of CPT using population analysis modeling to estimate whether CPT could influence the time course of the effect of rocuronium by affecting PK and/or PD mechanisms.

Material and methods

Study design

With the approval of the Ethics Committee of the Hospital Clinic of Barcelona and after obtaining written informed consent from the participants, we enrolled 21 patients scheduled to undergo brain surgery in this observational, open label, non-randomized clinical study. Ten patients were in the CPT group, defined as having received phenytoin as the only antiepileptic drug for at least 7 days prior to surgery [2]. The remaining 11 patients were not receiving phenytoin or any other antiepileptic drug. Patients with liver or renal insufficiency were not included in the protocol. The study was designed according to the Good Clinical Research Practice for Pharmacokinetic Studies of Neuromuscular Blocking Agents as published in Viby-Mogensen et al. [10].

Anesthetic management

Three hours before being brought into the operating room, patients received 5 mg of diazepam as an oral dose. Upon arrival in the operating room, routine monitoring according to the accepted neurosurgical anesthesia protocols of our hospital was started: pulse oximetry; electrocardiogram; arterial line (for continuous blood pressure monitoring).

Before starting the induction of anesthesia, baseline samples were drawn to estimate the pre-surgical plasma concentrations of phenytoin, α_1 -acid glycoprotein, albumin, and total protein levels; a blank sample without rocuronium was also taken. A sample of the rocuronium infusate was drawn to assess the exact amount of rocuronium infused to the patient.

Propofol (2 mg kg^{-1}) was used as the hypnotic agent for induction and maintenance of anesthesia, analgesia was provided by means of a continuous infusion of remifentanyl ($0.01\text{--}0.5 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$) adjusted in accordance with on clinical requirements. Laryngoscopy and intubation were performed once the bolus dose of rocuronium had been injected and the surgeons had received assurance that the maximal effect was achieved.

Pharmacokinetics

Rocuronium administration

Rocuronium concentration was 10 mg mL^{-1} for the bolus dose and a 2 mg mL^{-1} solution for the maintenance infusion. To avoid undesired movement during laryngoscopy and intubation, rocuronium was administered to the patient as a bolus of $3 \times ED_{95\%}$ (0.9 mg kg^{-1} ; $ED_{95\%}$ is the effective dose in 95% of patients). Single twitch height was used as the measure of rocuronium effect as explained below. After the patient recovered up to a twitch height of 25% of control twitch, a continuous intravenous infusion was started; this was adjusted during the whole procedure to maintain one response of the train of four or to clinical requirements warranting an adequate level of immobility during the whole surgical procedure until the surgeons started closing the skull, at which time the infusion was stopped. Several changes in infusion rate were made during the procedure in accordance with ongoing data on the increase and decline of effect.

Blood sampling scheme

Based on prior information on the PK model of rocuronium [11], we carried out a simple simulation exercise to decide a sampling scheme that would allow the estimation of reliable parameters defining the PK model. Briefly, PK profiles for a sample of 20 individuals were simulated under different measurement sampling designs, and model parameters were estimated from the simulated profiles and subsequently compared with the ones used in the simulations. Based on the results of the simulations, we decided to draw arterial blood samples (5 mL) at 1.5, 3, 6, 10, 30, 60 min after the bolus injection and at hourly intervals thereafter until the end of the infusion, and at 10, 30, 60 and 120 min after the rocuronium infusion was stopped. The

blood samples were centrifuged at 10 g and 2 mL plasma was extracted from each sample and frozen at -80°C for transport and analysis at a later date.

Determination of rocuronium and phenytoin in plasma

Concentrations of rocuronium in plasma were analyzed by high-performance liquid chromatography with post-column ion-pair extraction and fluorimetric detection [12]. The assay accuracy was 5% over the range of 10–1000 ng mL⁻¹. The mean precision, as indicated by the within-day coefficients of variation, was 6.8% for rocuronium. The lower limit of quantification (LOQ) for rocuronium was 10 ng mL⁻¹ in plasma.

Serum phenytoin was measured in all patients using an enzyme immunoassay involving the inhibition of agglutination (Immulite 2500; DP Corp, Los Angeles, CA), which is the analytical technique routinely used to monitor therapeutic levels of phenytoin in epileptic patients at our institution.

Pharmacodynamics

While the patient was routinely monitored, electrodes for the electromyographic quantification of the neuromuscular blocking effect of rocuronium were placed, in accordance with the manufacturer's instructions (M-NMT Module; Datex Ohmeda, Helsinki, Finland), on the arm ipsilateral to the brain lesion. The electromyogram of the adductor pollicis was recorded using five disposable Ag/AgCl electrodes placed as follows: two stimulating electrodes along the ulnar nerve at the wrist, two recording electrodes (one at the adductor pollicis and the second on the lateral surface of the index finger) and one ground electrode between the stimulating and the recording electrodes. The arm was kept still by means of a rigid plastic frame to minimize movement artifacts and covered with drapes to avoid hypothermia that might alter the estimation of effect. The temperature of the arm was continuously monitored.

The M-NMT system was calibrated after the administration of propofol and remifentanyl but before the administration of rocuronium, as described elsewhere [8]. Pulses of 200 μs , at a rate of 2 Hz, were administered, starting from 10 mA, followed by increments of 5 mA. The maximal current obtained was then increased by 15%, yielding the supramaximal stimulation. The system was set to deliver a supramaximal train of four stimulations (200 μs , at 2 Hz) every 12 s for an equilibration period of 5 min. A train of four (TOF) stimulations was given at 20-s intervals.

The percentage change from the response to the supramaximal stimulus, the so-called T1%, was continuously

collected, recorded and stored. The exact times of rocuronium administration, changes in infusion rate and exact sampling times were also automatically collected online using the software program SS-COLLECT ver. 3.0 (Datex-Ohmeda, Helsinki, Finland). The resolution was one data point per second, and all data were stored in a computer hard drive for subsequent analysis.

Data analysis

The PK and PD data were fitted sequentially under the population approach using the first-order conditional estimation (FOCE) method with the INTERACTION option implemented in the software NONMEM ver. V [13]. First, the plasma concentration (C) versus time profiles of rocuronium were described and then the individual model-predicted estimates of the PK parameters were used to model the time course of the response data. The PK data were logarithmically transformed. Inter-patient variability (IPV) was modeled exponentially using the expression $\theta_i = \theta_{\text{TV}} e^{\eta_i}$, where θ_i is the estimate of the parameter in the *i*-th individual, θ_{TV} corresponds to the typical estimate of the parameter, and η_i represents the deviation between θ_i and θ_{TV} . The set of η_s constitutes a random variable symmetrically distributed around 0 and with variance ω^2 . Residual variability was described with an additive error model (which in the case of the PK data corresponds to a logarithmic error).

The stepwise generalized additive model (GAM) approach was used to identify the potential important covariates and their functional relationships with the model parameters [14]. The GAM approach was performed with S-PLUS using the XPOSE software ver. 3.011 [15]. Covariates selected during the GAM approach were then evaluated individually in NONMEM. Those covariates that showed a level of significance of $P=0.05$ were tested and incorporated, one at a time, until the full covariate model was obtained (forward inclusion). Following the forward inclusion, a backward elimination was performed on a significance level of $P=0.01$.

Selection between models was based on the precision of the model parameter estimates, the visual inspection of the goodness-of-fit and residual plots and the minimum value of the objective function [$-2 \log(\text{likelihood})$; $-2LL$] provided by NONMEM. A 3.84 and a 6.63 point decrease in $-2LL$ between two nested models were considered significant at the 0.05 and 0.01 levels, respectively.

Model parameters were expressed as the estimated values together with the corresponding relative standard error computed as the ratio between the standard error and the estimate of the parameter. The degrees of inter-patient and residual variability were expressed as the coefficient of variation (CV; %).

Pharmacokinetic model

Drug disposition in the plasma was described using compartmental models parameterized in terms of volumes of distribution (V_1 , V_2 , V_3), distribution clearances (Cl_2 , Cl_3), and total plasma clearance (Cl_1).

Pharmacodynamic model

T1% variable values were fit using the effect compartment model that links the observed concentrations of rocuronium in plasma to the neuromuscular blocking effect of rocuronium with a first-order process [16]. The sigmoidal E_{MAX} model was used to relate drug effects to the predicted concentrations in the effect site (C_e).

Model evaluation

To evaluate the PK and the PD models, we calculated the prediction error (PE) for every measurement in each individual studied, as follows:

$$PE = \frac{Obs - Pred}{Pred} \times 100$$

where *Obs* means observation (measured plasma concentration of rocuronium or the T1% effect measured for the PK and PD models, respectively), and *Pred* means the PK or PD model individual prediction for each time there was an observation. The difference between *Obs* and *Pred* normalized to the range of the effect measure was used to evaluate the models, as described elsewhere [17]. For every patient we calculated the median prediction error (MDPE), as a measure of bias, and the median absolute prediction error (MDAPE), as a measure of inaccuracy, as described elsewhere [18]. The median across all individual values of MDPE and MDAPE were also calculated. The best and worst individuals of the CPT and non-CPT groups, respectively, according to their MDAPE were selected and graphically displayed for evaluation of the PK and PD models.

A predictive check was used to explore the PKPD models [19]. Five hundred new data sets were simulated based on the selected models. For each of the simulated data sets, the median of the first time at which the response was $\geq 80\%$ after the initial bolus was computed. The difference between the median value computed from the original data and the median from all of the simulated data sets is reported as an additional measure of the performance of the proposed PKPD model.

Clinically relevant endpoints

To further explore the predictions of the proposed model and to enable possible dosing adjustments to be studied and

compared between patients under CPT and patients who were not taking phenytoin, we conducted simulations based on the PKPD model. The goal of the simulations was to evaluate the effects of a dose of rocuronium on normal individuals as compared to subjects under CPT. The effect profile after a single bolus dose of rocuronium was simulated for a typical individual of the CPT group and compared to a typical individual of the control group. The size of the bolus used for simulations was $3 \times ED_{95\%}$ (0.9 mg kg^{-1}).

Indicators related to onset $T_{10\%}$ (time to reach a T1% of 10% of the T1 control) and T_{PE} (time to peak effect), duration $T_{125\%}$ (time to recover to a T1% of 25%) and offset $T_{125\%-75\%}$ (time from recovery of T1% 25% to T1% of 75%) of effect were calculated for the non-CPT and CPT individuals based on the estimated parameters of the PKPD model. $T_{10\%}$ is a descriptor of the onset of effect that depends on the dose given—the larger the dose, the shorter the time it takes to reach $T_{10\%}$. T_{PE} is a dose-independent descriptor of the onset of effect and has been described elsewhere [20]. Simulations were conducted using PKPDTOOLS FOR EXCEL, an EXCEL add in suite of functions that allows different complex pharmacological calculations to be performed [21].

Results

The demographics, surgical procedure and other details on the characteristics of the patients are given in Table 1. Table 2 reports the covariate factors (median value and range) included in the PKPD analysis process. Figure 1 shows that CPT patients required higher doses (expressed as rates of administration) than control patients. The data from five patients (two in the control group and three in the CPT group) could not be included in the PD analysis due to anomalies in the automatic data downloading process; consequently, their data were only used in the PK part of the data analysis.

Pharmacokinetic model

A three-compartment body disposition model resulted in a significantly better fit than the one- and two-compartment models ($P < 0.01$). Inclusion of IPV was found to be significant for Cl_1 , volume of distribution of the shallow peripheral compartment (V_2), and distribution clearance between the central and the shallow peripheral compartment (Cl_2) ($P < 0.01$). The covariance between IPV terms was not significant ($P > 0.05$).

The following covariates were selected during the GAM approach: age, height and CPT on Cl_1 , albumin concentration on V_2 , α_1 -acid glycoprotein concentration and weight

Table 1 Demographic and dosing characteristics of the patients

Identification no.	Diagnosis	Age (years)	Gender	Weight (kg)	Height (cm)	Bolus (mg)	Infusion ^a ($\mu\text{g kg}^{-1} \text{min}^{-1}$)	CPT (days)	DXM	Concomitant pathology
1	Tumor right hemisphere	54	Female	63	171	60	14.46	No	Yes	No
2	Glioma left hemisphere	29	Female	73	158	70	17.19	30	No	No
3	Oligodendroglioma left hemisphere	38	Female	62	159	60	15.13	300	No	No
4	Tumor right hemisphere	75	Female	58	156	50	12.38	No	Yes	No
5	Tumor left hemisphere	48	Male	64	185	60	22.54	20	No	No
6	Suprasellar tumor	19	Male	76	176	70	23.28	134	Yes	Hypothyroidism
7	Tumor left hemisphere	61	Female	60	168	60	16.77	No	Yes	No
8	Tumor left hemisphere	48	Female	53.5	156	50	13.84	No	No	No
9	Tumor right hemisphere	35	Male	92	182	80	11.86	No	Yes	No
10	Arteriovenous malformation (left temporal lobe)	47	Male	84	184	80	22.28	480	No	No
11	Tumor right hemisphere	47	Male	76	180	70	25.63	17	No	No
12	Tumor right hemisphere	76	Male	65	165	60	18.13	No	No	Diabetes
13	Tumor right hemisphere	55	Male	71	179	70	13.93	No	Yes	No
14	Tumor inter-hemispheric	61	Female	86	158	80	16.42	No	No	Hypertension, diabetes, depression
15	Tumor Posterior fossa	59	Female	75	163	70	10.55	No	No	Hypertension
16	Tumor right hemisphere	40	Female	61	166	60	21.65	7	No	No
17	Tumor pineal gland	38	Female	52	162	50	11.46	No	No	No
18	Tumor left hemisphere	52	Male	87	170	80	14.75	No	No	No
19	Giant left meningioma	77	Female	52	159	50	19.56	360	No	No
20	Tumor right hemisphere	30	Female	62	176	60	40.46	360	No	No
21	Tumor right hemisphere	53	Male	74.5	170	70	23.65	30	Yes	No

CPT, Chronic phenytoin therapy; DXM, dexametason treatment

^aTotal dose infused has been normalized to weight and averaged to the minutes of infusion duration

on Cl_2 . However, the analysis with NONMEM revealed that only CPT was a significant covariate on Cl_1 ($P < 0.01$).

Table 3 shows the model estimates corresponding to the final population model in the control and CPT groups, where it can be observed that all parameters were associated with a good precision.

Goodness-of-fit measures showed that the proposed PK model had an overall good ability to describe the data. Inaccuracy was 3.63% and bias was -0.81% . Figure 2

presents the goodness-of-fit plots for the PK model. The population model (top) as well as the individual post-hoc Bayesian (bottom) predictions adequately described the measured concentrations of rocuronium. The plot of the time course of the percentage error did not show any systematic bias that could have influenced the predictions of the PK model. Figure 3 shows the best and worst individuals according to their MDAPE values in both groups of patients.

Table 2 Covariate factors analyzed in this project, compared between non-CPT and CPT groups

Covariate factors	Non-CPT (n=11)	CPT (n = 10)
Age (years)	55 (35–76)	39 (19–77)
Weight (kg)	65 (52–92)	68.5 (52–84)
Height (cm)	165 (156–182)	173 (158–185)
Gender (M/F)	7/4	4/6
Phenytoin concentration (mg L ⁻¹)	0	8.05 (4.6–30.2)
Phenytoin (categorical)	0	10
Dexamethasone (categorical)	5	4
Total protein (g L ⁻¹)	60 (44–71)	60.5 (53–68)
Albumin (g L ⁻¹)	39 (27–44)	37.50 (34–42)
α ₁ Acid glycoprotein (g L ⁻¹)	0.91 (0.41–1.14)	0.85 (0.52–3.01)

Values are expressed as the median, with the range given in parenthesis

The CPT increased the typical population estimate of Cl_1 from 0.26 to 0.75 L min⁻¹ and reduced the unexplained IPV found in the basic population model from 60 to 24.4%. Figure 4 displays the distribution of individual estimates of Cl_1 , where it can be observed that there is no overlap between the two groups of patients.

Pharmacodynamic model

The effect compartment model showed a clear superiority over the model that directly used the plasma concentration of rocuronium to describe the T1% data ($P < 0.05$). The

inclusion of IPV was found to be significant ($P < 0.01$) for k_{e0} (the first-order rate constant governing drug distribution between the central and the effect compartment), IC_{50} (the steady-state plasma concentration eliciting half of the maximum response) and γ (the sigmoidicity parameter). Covariance between the IPV terms was not significant ($P > 0.05$). None of the individual patient characteristics were selected as potential significant covariates during the GAM analysis. The effect of CPT on IC_{50} was tested in NONMEM and found to be statistically non-significant ($P > 0.05$). Table 4 lists the parameter estimates corresponding to the PD model, where it can be observed that all parameters were estimated with high precision.

In terms of the goodness-of-fit measures, the median values for MDAPE and MDPE were 8.6 and 1.05, respectively. When the observations were compared to the individual post-hoc model predictions, MDAPE was 3.4 and MDPE 0.36. Figure 5 shows the representative goodness-of-fit plots. Figure 6 shows the best and worst individuals according to their MDAPE in both groups.

Results from the predictive check showed very good agreement between the medians of the times to achieve $\geq 80\%$ blockade after the first bolus administration. The median value for the observed T1% was 1.4 min and that for the simulated T1% was 1.9 min, providing an additional indication that the selected models were supported by the data.

The impact of CPT on IC_{50} was further evaluated by graphical inspection in Fig. 7 where it is clear that the

Fig. 1 Dose requirements expressed as rates of administration vs. time for the two group patients. *Left panel* Non-chronic phenytoin therapy (CPT) patients, *right panel* CPT patients. Each line represents an individual profile

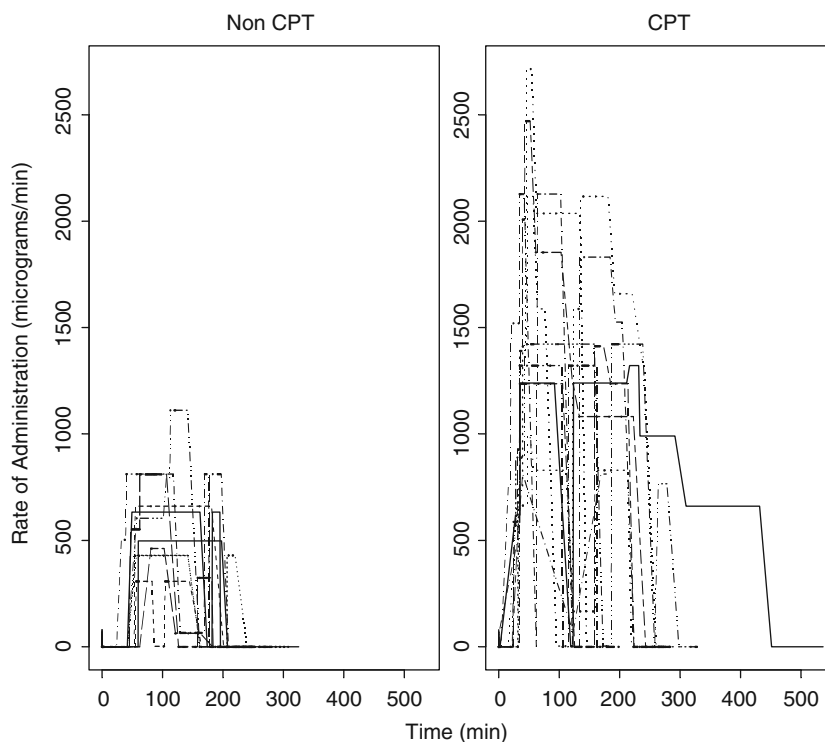


Table 3 Final population pharmacokinetic (PK) parameters for rocuronium in the presence or absence of CPT

Parameter	Typical Population Estimate	Inter-patient variability
V ₁ (L)	4.04 (0.07)	-
V ₂ (L)	5.34 (0.13)	44 (0.4)
V ₃ (L)	4.93 (0.26)	-
Cl ₁ (L min ⁻¹)	No CPT: 0.26 (0.1) CPT: 0.75 (0.06)	24.4 (0.49)
Cl ₂ (L min ⁻¹)	0.36 (0.14)	43 (0.49)
Cl ₃ (L min ⁻¹)	0.04 (0.15)	-
Residual (%) ^a	0.3 (0.16)	-

V₁, V₂, and V₃, Volumes of distribution of the central, shallow peripheral, and deep peripheral compartments, respectively; Cl₁, total plasma clearance; Cl₂ and Cl₃, intercompartmental clearance between the central and shallow peripheral compartments, and between the central and deep peripheral compartments, respectively

Model parameter estimates are reported with their relative standard error in parentheses. Inter-patient variability is expressed as coefficient of variation [CV(%)]

^aResidual error in logarithmic scale

typical population estimates of IC₅₀ between the two groups of individuals are very similar. The dispersion in IC₅₀ in the CPT group was higher although the data did not support the estimation of a different variance in IC₅₀ between the two groups ($P > 0.05$).

Clinically relevant endpoints

Figure 8 shows the time course of predicted effect after a bolus dose of 63 mg ($3 \times \text{ED}_{95\%}$, 0.9 mg kg^{-1}). The graph allows a comparison between groups with respect to onset, duration and offset of effect, based on the estimated PKPD parameters. The left panel shows the results of the simulation for the typical individual, representing the group of patients not taking phenytoin. The right panel represents the typical patient of the CPT group. After a rocuronium bolus dose of 63 mg, onset, defined as the time from the bolus injection to the time a T1% equal to 10% of T1% control height, was 3.2 min in the control group and 5.25 min in the CPT group. T_{PE} was 11.23 and 7.17 min in the control and CPT groups, respectively. The time from bolus injection to a recovery of T1% equal to 20% of control T1% was 45.2 min in the control group as compared to 16.75 min in the CPT. To reach a recovery of 80% of control T1% would take 85.8 min in a patient of the control group and 37.75 min in a patient taking CPT. The offset of effect was evaluated by calculating the time of recovery from a T1% of 25% to a T1% of 75% of the control T1% height; it was 32.2 and 16.75 min in the control and CPT patients, respectively.

Discussion

The patients of our study who were taking CPT required a significantly higher dose of rocuronium to maintain an adequate level of neuromuscular blocking effect. This finding is consistent with clinical knowledge and the research of other authors on rocuronium and other NMBA. We used the population PKPD modeling approach to explore at which level (PK or PD) CPT affects rocuronium response.

Disposition of rocuronium in plasma has been characterized in the past with the use of a two-compartment [22] and a three-compartment body model [23]. Regardless of the selected model fitted to the plasma concentration data, rocuronium in healthy patients is characterized by: (1) small V₁, with values ranging from 2.7 [23] to 6.76 L [22], (2) a small apparent volume of distribution at steady-state (V_{SS}), ranging from 10.5 [22] to 19.95 L [24] and (3) low Cl₁ 0.2 L min^{-1} [24]. Those previous results are in accordance

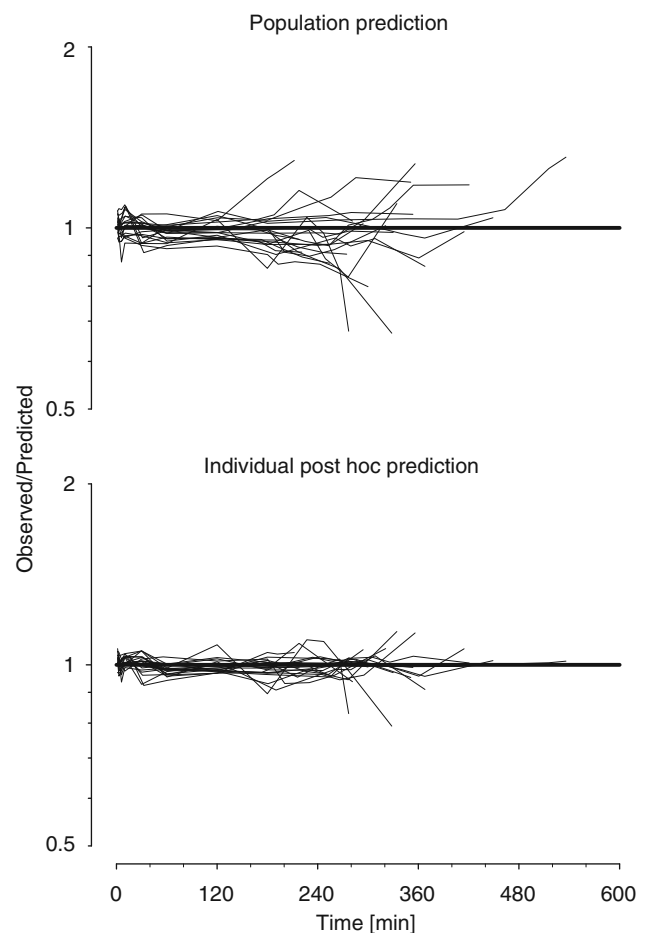


Fig. 2 Goodness-of-fit plots for the selected population pharmacokinetics (PK) model. *Top panel* Time course of the prediction error for the population PK model, *bottom panel* the prediction error for the individual post-hoc prediction. In both graphs *each line* represents a single individual, and the *bold horizontal line* is the line of identity

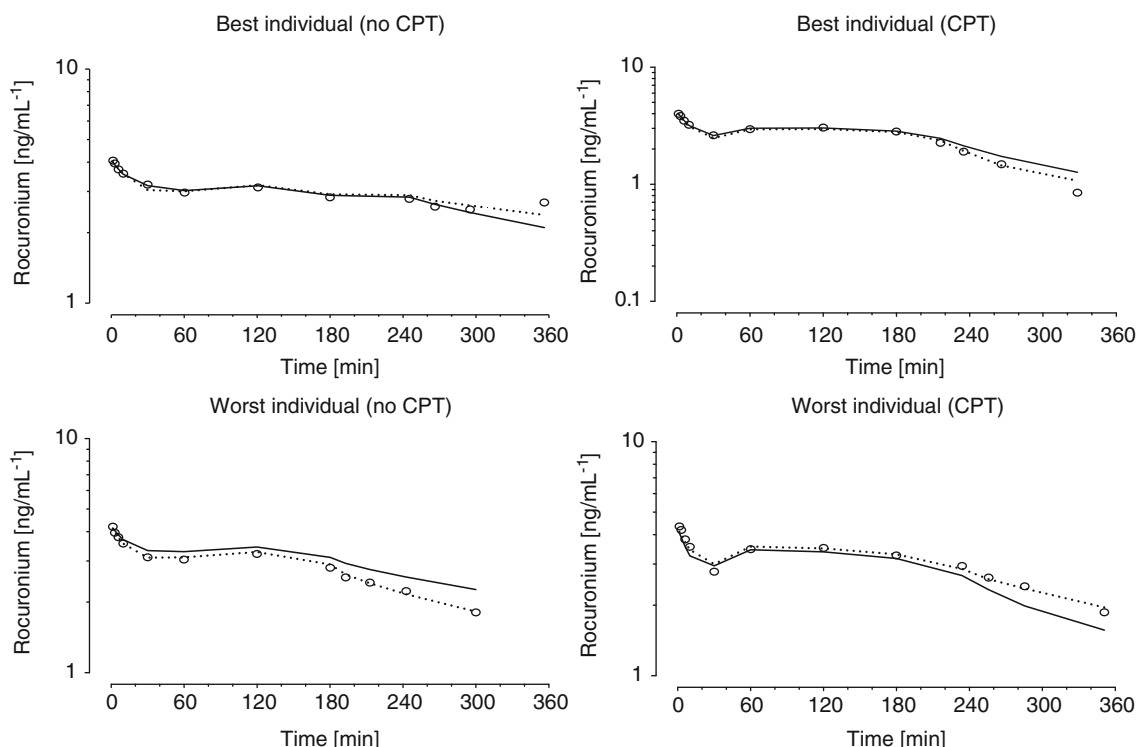


Fig. 3 Representative pharmacokinetic fits in both groups of patients. The best and worst fit in the group of patients not taking phenytoin (left) and those on CPT (right) according to their individual MDAPE values are represented in the top and bottom panel respectively. Each

panel represents the time course of the observed (circles), population-predicted (thick line) and individual Bayesian post-hoc-predicted (dotted line) rocuronium concentrations

with the model parameter estimates obtained in the current study for patients that were not under CPT: $V_1=4.03$ L, $V_{SS}=14.6$ L and $Cl_1=0.26$ L min^{-1} .

Our calculations revealed that no covariates other than the presence of CPT were significant at a PK or PD level. Some authors have reported changes in the level of α_1 -acid glycoprotein between non-treated and phenytoin-treated patients that could justify an increase in rocuronium protein

binding and partly explain a decrease in neuromuscular blocking effect [25]. We did not detect such differences between groups nor were we able to detect any effect of α_1 -acid glycoprotein as a covariate factor in the modeling process. α_1 -Acid glycoprotein showed no correlation with phenytoin concentrations or with the duration of CPT as other authors have also reported [26–28]. In our study, similar total protein levels or albumin were measured in

Fig. 4 Distribution of the individual estimates of clearance in each of the two groups of patients. The length of each box covers the 50% of the estimates, and the median is indicated by the white line in the box. The distance from the median to the end of each whisker (lines extending from the box) is equal to 1.5-fold the interquartile range

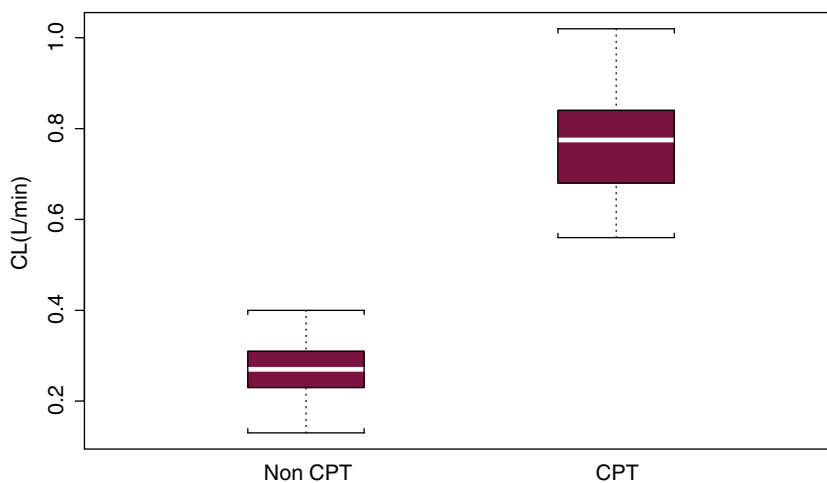


Table 4 Population pharmacodynamic parameters for rocuronium

Parameter	Typical population estimate	Inter-patient variability
k_{e0} (min^{-1})	0.073 (0.1)	42.4 (0.24)
IC_{50} (ng mL^{-1})	836 (0.13)	52.9 (0.15)
γ	3.13 (0.13)	52.5 (0.2)
Residual (%)	10.2 (0.25)	-

Model parameter estimates are reported with their relative standard error given in parentheses; inter-patient variability is expressed as coefficient of variation [CV(%)]

k_{e0} , First-order rate constant controlling drug distribution between plasma and biophase; IC_{50} , steady-state plasma concentration value eliciting half of the maximum neuromuscular blockade; γ , parameter governing the shape of the response vs predicted effect site concentration relationship

patients from both groups. Based on the reported findings CPT must be taken into account when using rocuronium as the neuromuscular blocking agent of choice.

In terms of covariate detection, it is worth noting the effect of factors such as weight could not be detected. It is possible that a different design of the study with a more representative group of patients of different weights and ages would give a better answer to this point. One possibility to be considered is that dosing rocuronium according to weight would not decrease the variability in the response and would not be necessary, but this area requires further exploration.

The results of our study show that CPT has an important influence on the elimination of rocuronium, increasing the value of Cl_1 from 0.26 to 0.75 L min^{-1} while decreasing IPV from 60% to 24.4, when it was included in the PK model as a covariate. A PK interaction to explain the resistance to rocuronium observed in one patient with renal insufficiency under CPT was suggested in the past [9]. A decrease in the rocuronium-induced neuromuscular block-

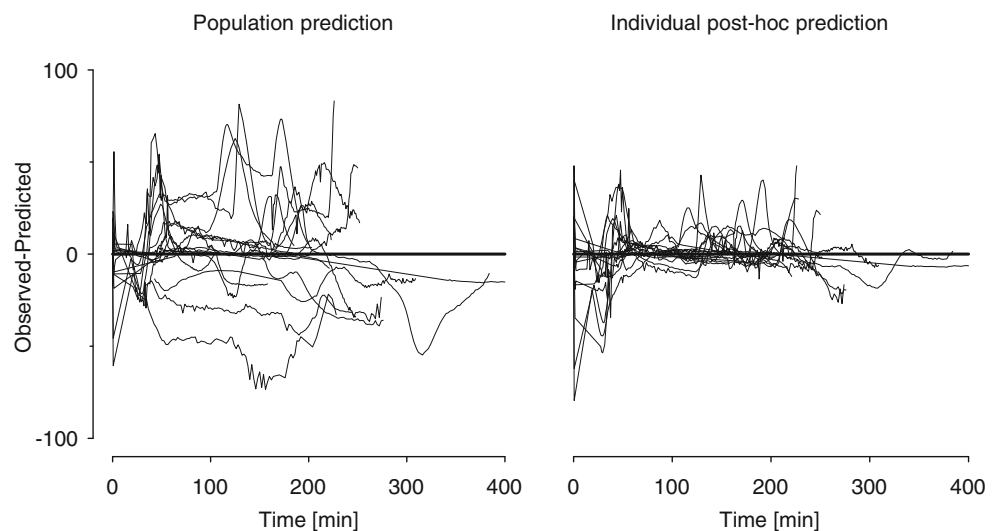
ade in patients under CPT was also observed [5]. Our contribution confirms such a hypothesis and quantifies the effect of the co-medication at the median level of the parameter Cl_1 as well as the decrease in IPV, when CPT was included in the PK model.

Our estimated values for IC_{50} , the estimate of drug potency, are consistent with those reported by other authors, which ranged from 684 [22] to 1030 ng mL^{-1} [29]. From a PD standpoint, it is worth noting that, according to our results, CPT does not affect the typical estimate of IC_{50} . Other authors have demonstrated an effect of antiepileptic therapy on the IC_{50} of different NMBA, such as vecuronium [2], although others were unable to detect changes in vecuronium IC_{50} in the presence of carbamazepine [30]. In terms of rocuronium, there has been no report of the influence of antiepileptic drugs on the potency, IC_{50} , of the drug.

Our PKPD model estimates a typical value of k_{e0} of 0.073 min^{-1} for all subjects studied regardless of CPT. These values are different from those reported previously for rocuronium bromide [22, 23, 29]. There may be several factors that can explain these differences in k_{e0} values of NMBA: differences in the effect measurement method (electromyogram vs. force transducer), in the signal acquisition method or the train of four derived parameter used for PD modeling, in the core temperature maintained during the surgical procedure, or differences related to study design, especially those related to the drug administration method (bolus, constant or variable continuous infusion or a combination of both) or to which part of the anesthesia was chosen to study the effect (induction, maintenance) [31].

The design of this study in terms of rate of administration must be commented upon. It has been shown that the erroneous assumption that drug plasma concentrations peak at time zero and decrease monotonically after bolus administration affects the accuracy of PD parameter

Fig. 5 Goodness-of-fit plots for the selected population PD model. *Left panel* The time course of the prediction error for the population PD model, *right panel* the prediction error for the individual post-hoc prediction. In both graphs each *hairline* represents a single individual, and the **bold horizontal line** is the line of identity



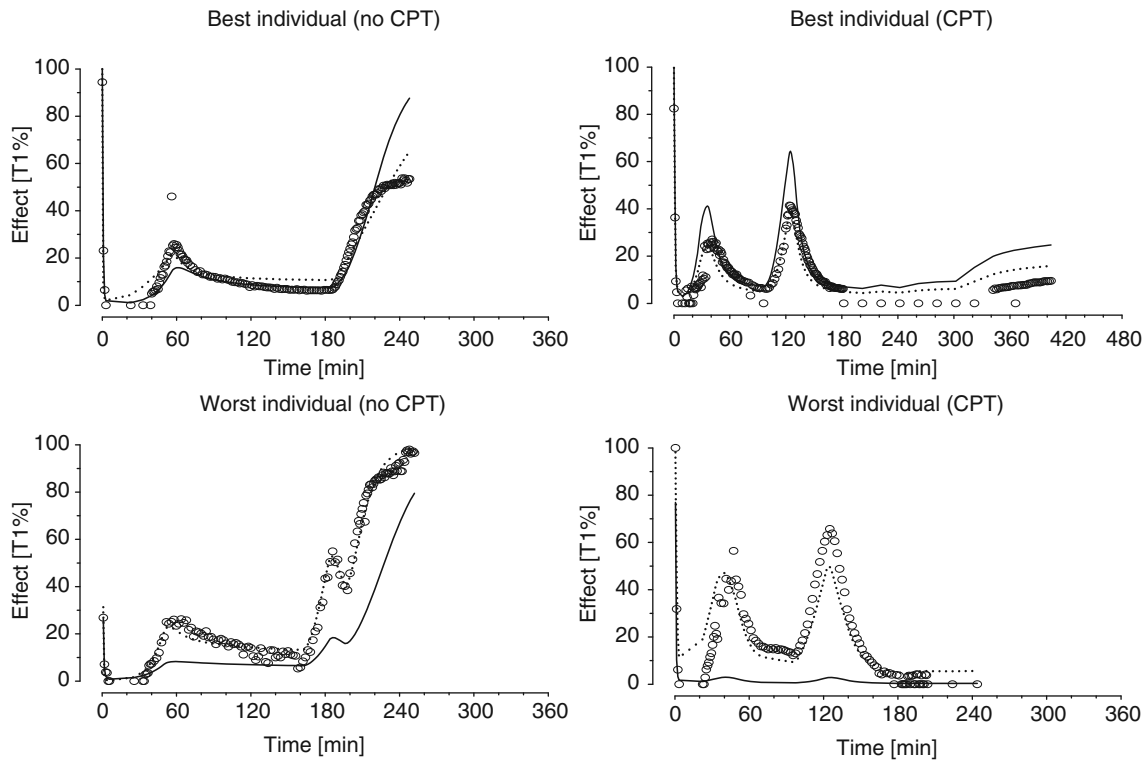


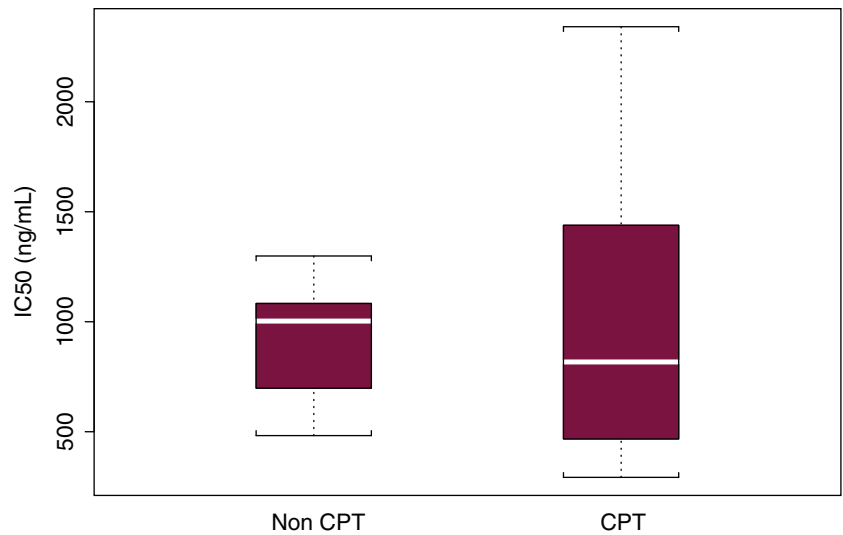
Fig. 6 Representative PD fits. The best and worst fit in the group of patients not taking phenytoin (*left*) and those on CPT (*right*) according to their individual MDAPE values are represented in the *top and bottom panels*, respectively. Each panel represents the time course of

the observed (*circles*), population-predicted (*thick line*) and individual Bayesian post-hoc-predicted (*dotted line*) rocuronium-induced effect on T1%

estimates with doses producing rapid, complete twitch depression [32]. In our study, all patients in both groups received a high initial bolus dose ($3 \times ED_{95\%}$) because of clinical concerns related to insufficient neuromuscular blockade in brain surgery patients. The concerns were based on the fact that, although the T1% effect measured at

the adductor pollicis muscle could reach an effect of 100%, this is not the case at the laryngeal muscles level, where it can not reach 90% of effect, and at the adductor pollicis, although during a significantly shorter period of time [33]. This problem, which has been described for non-epileptic individuals, could be much greater in the case of patients

Fig. 7 Distribution of the individual estimates of IC_{50} in each of the two groups of patients. The length of each box covers 50% of the estimates, and the median is indicated by the white line in the box. The distance from the median to the end of each whisker (the lines extending from the box) is equal to 1.5-fold the interquartile range



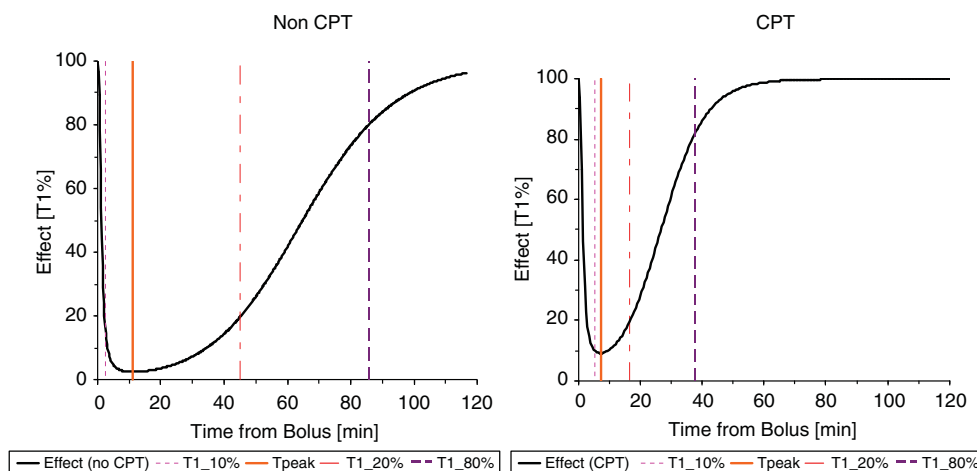


Fig. 8 Simulation of the time course of effect after a bolus dose of rocuronium in the CPT group as compared to the control group. The simulated bolus dose is 63 mg ($3 \times ED_{95\%}$, 0.9 mg kg^{-1} , assuming a weight of 70 kg) administered to the typical patient of the control group (*left panel*) and the typical patient of the CPT group (*right*

panel) according to the proposed PKPD model. Indicators of onset ($T_{10\%}$, T_{PE}) and duration of effect ($T_{120\%}$, $T_{180\%}$) as described in the text are represented in both graphs to allow for a better evaluation of the influence of CPT on neuromuscular blocking effect after a bolus dose of rocuronium

under chronic antiepileptic therapy, thereby placing them at a greater risk of insufficient blockade during induction. To overcome the limitations of a large initial bolus, we considered that a combination of a bolus and a variable continuous infusion, where several points of onset and offset of effect could be measured, could be a good approach to estimate PKPD parameters, as other authors have already demonstrated for anesthetic drugs such as propofol [34, 35].

It is also worth noting that an increase in the dose would increase the time of ablation of T1% which, in turn, would decrease the amount of data obtained on the relation between C_p and effect as well as decrease the number of data points related to onset of effect. This two facts might increase the bias and variability of the estimation of k_{e0} [32]. Bergeron et al. studied the PKPD of cisatracurium using three different bolus doses of 1.5-, three- and sixfold the $ED_{95\%}$ of cisatracurium. They found that there was a direct relation between doses and IC_{50} —i.e. the larger the dose the greater IC_{50} —while the k_{e0} was inversely related to dose—a larger dose decreased the estimate of k_{e0} , thereby increasing onset time [36]. Kuipers et al. estimated a k_{e0} for rocuronium of 0.24 min^{-1} ($t_{1/2k_{e0}}$ 2.9 min) after a bolus dose of $1 \times ED_{95\%}$ [22], while the estimates for k_{e0} of rocuronium in studies where $2 \times ED_{95\%}$ was administered ranged from 0.09 through to 0.17 ($t_{1/2k_{e0}}$ 4.12–7.7 min) [23, 29]. Our estimate of k_{e0} is lower than those reported, probably because of the influence of the initial $3 \times ED_{95\%}$ bolus dose.

Model misspecification could also contribute to explaining the lack of agreement between the pharmacodynamic results previously published by other authors and the results of our study. The attainment of 100% of effect might not be the real maximal effect but rather the level at which the signal

disappears although the effect is still building up. The use of the sigmoidal E_{MAX} model would not be adequate to model such data when the supramaximal effect is reached.

With regard to the results of simulating a bolus dose administered to a typical 70-kg subject belonging to each of the two groups studied in our study, it must be noted that although T_{PE} , a dose-independent indicator of onset of effect, indicates a shorter time to reach maximal effect in the CPT group, the onset is slower when the same dose is administered to both subjects. This is probably due to the fact that the increase in Cl_1 makes less drug available to reach the biophase and the effect is less intense and with a shorter duration. Consequently, in order to reach the same level of effect after a bolus, a larger dose of rocuronium must be administered to those patients under CPT. The calculated descriptors of duration and offset of effect predict a shorter duration and faster recovery in the group of patients under CPT; therefore, to maintain the same level of effect than in the control group, doses must be increased in the patients under CPT.

Caution must be taken in interpreting the simulations presented. Since our estimates of k_{e0} seem to be dependent on the dose administered, our results can only be valid when similar dosing schemes are used. Using the estimated parameters to study the time course of rocuronium effect on T1% may give erroneous conclusions when the simulated dose is a submaximal one, since for doses like $2 \times ED_{95\%}$ the estimated k_{e0} and possibly $IC_{50\%}$ might be greater and affect the expected time course of neuromuscular blocking effect.

In conclusion, a three-compartment PK model combined with the effect compartment model provided the best approach for describing the disposition and time course of the neuromuscular blocking effect of rocuronium bromide. When combining a large bolus dose with a variable

continuous infusion of rocuronium, the effect of CPT is to increase metabolic clearance with no apparent effect on C_{50} or k_{e0} . The effect of as large a bolus dose as that used in our study might affect the estimation of parameters such as C_{50} and k_{e0} . Chronic administration of phenytoin must be considered to be a relevant factor when deciding the dosing guidelines of rocuronium in such patients.

Acknowledgments Supported by FIS (Fondo de Investigaciones Sanitarias, Health Department, Government of Spain) grant no. 020582.

References

- Soriano SG, Martyn JA (2004) Antiepileptic-induced resistance to neuromuscular blockers: mechanisms and clinical significance. *Clin Pharmacokinet* 43:71–81
- Wright PM, McCarthy G, Szenohradszky J et al. (2004) Influence of chronic phenytoin administration on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of vecuronium. *Anesthesiology* 100:626–633
- Roth S, Ebrahim ZY (1987) Resistance to pancuronium in patients receiving carbamazepine. *Anesthesiology* 66:691–693
- Jellish WS, Modica PA, Tempelhoff R (1993) Accelerated recovery from pipecuronium in patients treated with chronic anticonvulsant therapy. *J Clin Anesth* 5:105–108
- Hernández-Palazón J, Tortosa JA, Martínez-Lage JF et al. (2001) Rocuronium-induced neuromuscular blockade is affected by chronic phenytoin therapy. *J Neurosurg Anesthesiol* 13:79–82
- Spacek A, Neiger FX, Krenn CG et al. (1999) Rocuronium-induced neuromuscular block is affected by chronic carbamazepine therapy. *Anesthesiology* 90:109–112
- Tempelhoff R, Modica PA, Jellish WS (1990) Resistance to atracurium-induced neuromuscular blockade in patients with intractable seizure disorders treated with anticonvulsants. *Anesth Analg* 71:665–669
- Richard A, Girard F, Girard DC et al. (2005) Cisatracurium-induced neuromuscular blockade is affected by chronic phenytoin or carbamazepine treatment in neurosurgical patients. *Anesth Analg* 100:538–544
- Szenohradszky J, Caldwell JE, Sharma ML et al. (1994) Interaction of rocuronium (ORG 9426) and phenytoin in a patient undergoing cadaver renal transplantation: a possible pharmacokinetic mechanism? *Anesthesiology* 80:1167–1170
- Viby-Mogensen J, Ostergaard D, Donati F et al. (2000) Pharmacokinetic studies of neuromuscular blocking agents: good clinical research practice (GCRP). *Acta Anaesthesiol Scand* 44:1169–1190
- Szenohradszky J, Fisher DM, Segredo V et al. (1992) Pharmacokinetics of rocuronium bromide (ORG 9426) in patients with normal renal function or patients undergoing cadaver renal transplantation. *Anesthesiology* 77:899–904
- Kleef UW, Proost JH, Roggevelde J et al. (1993) Determination of rocuronium and its putative metabolites in body fluids and tissue homogenates. *J Chromatogr* 621:65–76
- Beal SL, Boeckman AJ, Sheiner LB (1998) NONMEM users guide. Part VI. PREDPP guide. Project Group, University of California at San Francisco, San Francisco
- Mandema JW, Verotta D, Sheiner LB (1992) Building population pharmacokinetic-pharmacodynamic models. I. Models for covariate effects. *J Pharmacokin Biopharm* 20:511–528
- Jonsson EN, Karlsson MO (1999) XPOSE- and S-PLUS-based population pharmacokinetic/pharmacodynamic model building aid for NONMEM. *Comput Methods Programs Biomed* 58:51–64
- Sheiner LB, Stanski DR, Vozeh S et al. (1979) Simultaneous modeling of pharmacokinetics and pharmacodynamics: application to D-tubocurarine. *Clin Pharmacol Ther* 25:358–371
- Minto CF, Schnider TW, Egan TD et al. (1997) Influence of age and gender on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of remifentanyl. I. Model development. *Anesthesiology* 86:10–23
- Varvel JR, Donoho DL, Shafer SL (1992) Measuring the predictive performance of computer-controlled infusion pumps. *J Pharmacokin Biopharm* 20:63–94
- Holford N (2005) The visual predictive check—superiority to standard diagnostic (Rorschach) plots. In: 14th Meeting of the Population Approach Group in Europe. Available at: <http://www.page-meeting.org/default.asp?abstract=738>
- Minto CF, Schnider TW, Gregg KM et al. (2003) Using the time of maximum effect site concentration to combine pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Anesthesiology* 99:324–333
- Minto C F, Schnider T W (2007) PKPD tools for EXCEL. Available at: www.pkpdtools.com
- Kuipers JA, Boer F, Olofsen E et al. (2001) Recirculatory pharmacokinetics and pharmacodynamics of rocuronium in patients: the influence of cardiac output. *Anesthesiology* 94:47–55
- Dragne A, Varin F, Plaud B et al. (2002) Rocuronium pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship under stable propofol or isoflurane anesthesia. *Can J Anaesth* 49:353–360
- Plaud B, Proost JH, Wierda JM et al. (1995) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of rocuronium at the vocal cords and the adductor pollicis in humans. *Clin Pharmacol Ther* 58:185–191
- Abramson FP (1989) Parallel induction of plasma alpha 1-acid glycoprotein concentration and antipyrine clearance by drugs. *Prog Clin Biol Res* 300:427–435
- Morita K, Yamaji A (1994) Changes in the concentration of serum alpha 1-acid glycoprotein in epileptic patients. *Eur J Clin Pharmacol* 46:137–142
- Soriano SG, Sullivan LJ, Venkatakrishnan K et al. (2001) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of vecuronium in children receiving phenytoin or carbamazepine for chronic anticonvulsant therapy. *Br J Anaesth* 86:223–229
- Strolin BM, Ruty B, Baltes E (2005) Induction of endogenous pathways by antiepileptics and clinical implications. *Fundam Clin Pharmacol* 19:511–529
- van Mier MM, Eastwood NB, Boyd AH et al. (1997) The pharmacokinetics and pharmacodynamics of rocuronium in patients with hepatic cirrhosis. *Br J Clin Pharmacol* 44:139–144
- Alloul K, Whalley DG, Shutway F et al. (1996) Pharmacokinetic origin of carbamazepine-induced resistance to vecuronium neuromuscular blockade in anesthetized patients. *Anesthesiology* 84:330–339
- Donati F (2000) Neuromuscular blocking drugs for the new millennium: current practice, future trends—comparative pharmacology of neuromuscular blocking drugs. *Anesth Analg* 90:S2–S6
- Paul M, Fisher DM (2002) Pharmacodynamic modeling of muscle relaxants: effect of design issues on results. *Anesthesiology* 96:711–717
- Plaud B, Debaene B, Donati F (2001) The corrugator supercilii, not the orbicularis oculi, reflects rocuronium neuromuscular blockade at the laryngeal adductor muscles. *Anesthesiology* 95:96–101
- Schnider TW, Minto CF, Shafer SL et al. (1999) The influence of age on propofol pharmacodynamics. *Anesthesiology* 90:1502–1516
- Schnider TW, Minto CF, Gambus PL et al. (1998) The influence of method of administration and covariates on the pharmacokinetics of propofol in adult volunteers. *Anesthesiology* 88:1170–1182
- Bergeron L, Bevan DR, Berrill A et al. (2001) Concentration-effect relationship of cisatracurium at three different dose levels in the anesthetized patient. *Anesthesiology* 95:314–323

5.2. Artículo 2.

Fernández-Candil J, Gambús PL, Trocóniz IF, Valero R, Carrero E, Fábregas N. Feasibility of Microdialysis to Determine Interstitial Rocuronium Concentration in the Muscle Tissue of Anesthetized Neurosurgical Patients. *Journal of Neurosurgical Anesthesiology*.(2010) 22(2):163-9 (Original).¹⁸⁶

IF 2.33 (2010)

En este artículo, hemos conseguido detectar rocuronio muy próximo a su lugar de acción mediante microdiálisis, cosa que no se había realizado hasta ahora. Esta novedosa aproximación puede ser de gran utilidad a la hora de estudiar los mecanismos de distribución del fármaco hacia los diferentes tejidos y los diferentes factores que pueden influir, en este caso en la proximidad del lugar donde el rocuronio ejerce su efecto.

Una aplicación práctica de este fenómeno ha resultado el confirmar que los pacientes sometidos a TCF precisan más dosis de rocuronio para obtener el mismo efecto. Hemos podido llegar a esta conclusión ya que las concentraciones de rocuronio en el músculo eran similares en el grupo TCF y en el grupo control, mientras que las dosis requeridas para obtener similar efecto eran significativamente mayores en los pacientes con TCF.

Feasibility of Microdialysis to Determine Interstitial Rocuronium Concentration in the Muscle Tissue of Anesthetized Neurosurgical Patients

Juan Fernández-Candil, MD,* Pedro L. Gambús, MD,* Iñaki F. Trocóniz, PhD,†
Ricard Valero, MD,* Enrique Carrero, MD,* and Neus Fábregas, MD*

(*J Neurosurg Anesthesiol* 2010;22:163–169)

Background: Microdialysis is used to determine the concentrations of substances in the extracellular fluid of tissues. To date, it has not been used to measure rocuronium concentrations in human muscle. We determined the ability of microdialysis to recover rocuronium from muscle interstitial tissue for the purpose of assessing the effect of chronic phenytoin therapy on muscle concentrations of rocuronium.

Methods: In a first phase, an in vitro study was performed to establish the ability of the assay to recover rocuronium. In a second phase, 17 patients undergoing brain surgery were enrolled. Eight patients were on chronic phenytoin therapy and the remaining 9 patients were not taking any antiepileptic agent (controls). Rocuronium was administered intravenously and muscle tissue samples for microdialysis were collected.

Results: The recovery rate of the in vitro assay was 36% at a pump rate of 1 μ L/min. Rocuronium muscle tissue concentrations could be measured in 25 microdialysate samples. Rocuronium concentrations were similar in patients treated with phenytoin and in controls, although the doses required to obtain a similar effect were significantly higher in patients on chronic phenytoin treatment.

Conclusions: Quantification of drug concentrations in muscle by means of microdialysis is technically feasible in the clinical setting and it might help in studying pharmacologic mechanisms of drug action. Based on our results the decrease in the degree of effect of rocuronium in the presence of chronic phenytoin therapy might seem to be due mainly to a pharmacokinetic mechanism.

Key Words: microdialysis, rocuronium, phenytoin

Received for publication July 9, 2009; accepted October 27, 2009.

From the *Department of Anesthesiology, Hospital Clínic, Universitat de Barcelona, Barcelona; and †Department of Biopharmacology and Pharmaceutical Technology, Universidad de Navarra, Pamplona, Spain.

Sources of Support: Funded by the Health Care Research Fund [Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS)] of the Ministry of Health (Spanish Government), grant number 020582.

Presented in part at the Meeting of the European Society of Anaesthesia (ESA), Madrid, Spain, May 22 to 26, 2006.

Reprints: Neus Fábregas, MD, Department of Anesthesiology, Hospital Clínic, Universitat de Barcelona, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain (e-mail: fabregas@clinic.ub.es).

Copyright © 2010 by Lippincott Williams & Wilkins

Rocuronium bromide is one of the most used nondepolarizing neuromuscular blocking agents in anesthesia. It has a short onset of action with an intermediate duration of effect¹ and is excreted unchanged in urine and bile in high concentrations.^{2,3} Approximately 10% is metabolized to hydrophilic forms by decarboxylation, presumably via CYP3A4, a subunit of cytochrome P450, although this has not been confirmed.

Microdialysis is a technique for determining interstitial concentrations of substances. In clinical practice, it has been used to quantify the amount of a drug that reaches a specific organ or tissue^{4–6} and its clinical application in the study of tissue metabolism in severe brain damage has been already developed.^{7,8} It has also been used in clinical pharmacology studies of various drugs in human volunteers,^{9,10} but to our knowledge it has not been used yet to study the presence of neuro-muscular blocking agents in muscle interstitium.

Anticonvulsant agents, such as phenytoin, phenobarbital, and carbamazepine are potent inducers of microsomal liver enzymes. Phenytoin, for example, increases cytochrome P450 activity and may accelerate the metabolism of nondepolarizing neuromuscular blocking agents through this enzymatic pathway. In the presence of chronic treatment with phenytoin, higher doses of neuromuscular blocking agents are necessary to achieve and maintain the same level of effect.^{3,11} Although numerous studies assessing the possible mechanisms of interaction between both classes of drugs have been published, there is limited information regarding the interaction of rocuronium and phenytoin.^{11,12} Although it has been shown that neuromuscular blocking agents are more rapidly cleared in the presence of phenytoin, possible pharmacodynamic interactions remain unclear.^{12–14}

This study aims to determine the possibility that microdialysis a technique used in pharmacologic research could be used to study the mechanism of action of anesthetic drugs in patients undergoing surgical procedures and, based on the data collected, to further elucidate the biophase distribution of rocuronium in the presence of phenytoin.

MATERIALS AND METHODS

This cross-sectional, open-label, single-center study was designed in 2 phases. In the first phase, an *in vitro* experiment was performed to evaluate the characteristics of the microdialysis assay for the detection of rocuronium in terms of speed of infusion of the drug and time intervals for the collection of microdialysate samples. In the second phase, interstitial muscle concentrations of rocuronium were measured in 17 anesthetized patients undergoing brain surgery in the presence or absence (controls) of treatment with phenytoin. These patients were also included in a recently published study¹² where the effects of chronic phenytoin therapy on the pharmacokinetics (PK) and pharmacodynamics (PD) of rocuronium, using a PK-PD modeling approach, were studied in 21 patients, but the results of the microdialysis study have not yet been published. From the 21 patients originally studied in the PK-PD project, only 17 had the microdialysis catheter and these 17 are the ones studied in this work.

The study protocol was approved by the Clinical Research Ethics Committee of Hospital Clínic of Barcelona. All patients gave written consent to participate in the study.

In Vitro Study

Microdialysis requires the implantation of a microcatheter in a specific region of a tissue.¹⁵ The exchange of solutes through the semipermeable membrane of the catheter is bidirectional as a result of variations in concentration gradients.¹⁶ To extrapolate the actual levels of the drug in a clinical study, it is necessary to determine previously the extraction fraction of this drug, which is the ratio between the amount recovered in the dialysate and the amount in the extracellular fluid.

A microdialysis catheter with a 30 mm long polyamide membrane with a permeability cutoff of 20 kDa (CMA 70, CMA Microdialysis AB, Stockholm, Sweden) was placed in a normal saline solution with known concentrations of rocuronium (250 and 500 µg/mL) and connected to an infusion pump (CMA 107 Microdialysis Pump, CMA Microdialysis AB, Solna, Sweden) that infused the saline solution at flow rates of 0.5, 1, and 1.5 µL/min. Passage of rocuronium through the catheter membrane was ensured as the molecular weight of this agent is 546 Da.¹⁷ The concentration of rocuronium was analyzed in 18 dialysate samples using the biochemical method described below. Each sample was analyzed twice and the average of the 2 results was recorded.

Clinical Study

This phase of the study was designed in accordance with good clinical practice and research guidelines for nondepolarizing neuromuscular blocking agents.^{18,19} Of the 17 patients included in the study, 8 were on chronic phenytoin treatment as defined by the use of phenytoin as the only anticonvulsant agent for at least the previous 7 days.¹⁴ Controls were the remaining 9 patients not treated with anticonvulsant agents. Details of patient monitoring

and collection of blood samples have been previously reported.¹²

Although the patient was routinely monitored, electrodes for electromyographic quantification of neuromuscular blocking effect of rocuronium were placed, according to the manufacturer's instructions (M-NMT Module, Datex Ohmeda, Helsinki, Finland), on the arm ipsilateral to the brain lesion. The electromyogram of the adductor pollicis was recorded using 5 disposable Ag/AgCl electrodes placed as follows: 2 stimulating electrodes along the ulnar nerve at the wrist, 2 recording electrodes (one at the adductor pollicis and the second on the lateral surface of the index finger), and 1 ground electrode between the stimulating and the recording electrodes. The arm was kept still by means of a rigid plastic frame to minimize movement artifacts and covered with drapes to avoid hypothermia that might alter the estimation of effect. Temperature of the arm was continuously monitored.

The M-NMT system was calibrated after administration of propofol and remifentanyl but before administration of rocuronium. Pulses of 200 µs, at a rate of 2 Hz were administered, starting from 10 mA with increments of 5 mA. The maximal current obtained was then increased by 15%, yielding the supramaximal stimulation. The system was set to deliver supramaximal train of 4 (TOF) stimulations (200 µs, at 2 Hz) every 12 seconds for an equilibration period of 5 minutes. A TOF stimulation was given every 20 seconds.

Placement of the Microdialysis Catheter

Before anesthetic induction, a 16 G catheter needle was inserted into the vastus lateralis of the quadriceps muscle ipsilateral to the brain lesion, following cleaning and disinfection of the insertion site. The puncture site was anesthetized with 1 mL of 2% lidocaine. The angle of insertion was 45° and care was taken to avoid bleeding; if bleeding occurred, a new puncture site was used. Ultrasound (SonoSite MicroMaxx; L38 linear probe; SonoSite Inc, Bothell, WA) was used to confirm the correct placement of the catheter in the muscle. Then, a microdialysis catheter of the same characteristics as the one used in the *in vitro* study was inserted through the 16 G catheter and left in the muscle tissue, fixed in place with an adhesive pad to prevent movement. The system was then purged and the first sample discarded. On the basis of results of the *in vitro* study, the microdialysis fluid was infused at a rate of 1 µL/min using an infusion pump. The first sample (baseline) was drawn 20 minutes after starting the infusion when rocuronium was not yet present in the blood.

Rocuronium Administration and Dialysate Sampling Protocol

Propofol (2 mg/kg) was used as the hypnotic agent for induction and maintenance of anesthesia, analgesia was provided with a continuous infusion of remifentanyl (0.01 to 0.5 µg/kg/min) adjusted depending on clinical requirements. After injecting the bolus dose of

rocuronium (0.9 mg/kg) and assessing that maximal effect was achieved, laryngoscopy and intubation were performed. After the patient recovered to 25% of first twitch (T1-25%) of a TOF, a continuous intravenous infusion of rocuronium (2 mg/mL) was started. The intravenous infusion rate was adjusted throughout the procedure, generally, to maintain the effect level of T1-25% considered adequate for maintenance of neuromuscular blockade during anesthesia.¹⁸ Although it was occasionally necessary to make further adjustment in response to surgical requirements, normal carbon dioxide levels were maintained. The rocuronium infusion was discontinued at the time of suturing the craniotomy incision. No anti-convulsant agents were administered intraoperatively.

Microdialysis samples were collected every 3 hours to allow recovery of sufficient rocuronium in each sample; in the last 6 samples, however, the extraction time was reduced to 1 hour to assess the ability of the system to detect rocuronium within a clinically acceptable time. Therefore, according to the interval between sampling, 180 µL or 60 µL samples were obtained, and stored at -80°C until analysis. At the time of extraction of the microdialysis samples, a 5 mL blood sample was drawn, centrifuged at 10g to obtain 2 mL plasma aliquots in each sample, and then stored at -80°C until analysis.

Heart rate, continuous arterial blood pressure, central (esophageal thermometer) and peripheral temperature (cutaneous thermometer), pulse oximeter oxygen saturation, the T1-25%, all TOF responses, and the Bispectral Index were automatically recorded, with a resolution of 1 data point per second by means of the software program S5-Collect (Datex Ohmeda, Helsinki, Finland). These data were stored on a computer hard drive for subsequent analysis. The doses of rocuronium administered were also recorded at the end of the

operation (bolus, continuous infusion, and total amount of rocuronium in both groups).

Determinations of Phenytoin and Rocuronium

Phenytoin concentrations were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (Immulite 2500, DPCorporation, Los Angeles, CA). Concentrations of rocuronium in serum and dialysate were analyzed by high-performance liquid chromatography and postcolumn ion-pair extraction with fluorometric detection.²⁰ The assay accuracy, expressed as the percentage of the added amount recovered, was 5% over the range of 10 to 1000 ng. The mean precision, as indicated by the coefficients of variation, was 6.8% for rocuronium.

The actual concentration of rocuronium in muscle was calculated from the concentration determined by microdialysis within the muscle and the recovery capacity of the system determined in vitro, according to the pump flow rate and sampling time.

Statistical Analysis

The data are expressed as mean and SD. The Mann-Whitney *U* test was used for the comparison of continuous variables between the study group and the control group. The SPSS statistical software package for Windows (version 12.0, SPSS Inc, Chicago, IL) was used for the analysis of data. Statistical significance was set at *P* < 0.05.

RESULTS

In Vitro Study

In vitro recovery rates of rocuronium are shown in Table 1. A concentration of rocuronium of 250 µg/mL in the solution resulted in recovery rates of 61%, 36%, and

TABLE 1. Rocuronium Concentrations, Ratios to Initial Concentration, and Flow Rates in the In Vitro Study

Sample	Initial (µg/mL)	Pump Flow (µL/min)	Assay 1 (µg/mL)	Assay 2 (µg/mL)	Average (µg/mL)	Ratio	Mean Ratio	SD
1	250	0.5	164.2	172.6	168.4	0.67	0.61	0.057
2	250	0.5	145.5	142.2	143.85	0.57		
3	250	0.5	144	143.8	143.9	0.57		
4	250	1	78.1	82.9	80.5	0.32	0.36	0.034
5	250	1	99	95.4	97.2	0.39		
6	250	1	93.7	90.4	92.05	0.37		
7	250	1.5	60.3	68.8	64.55	0.26	0.24	0.066
8	250	1.5	44.2	40.3	42.25	0.17		
9	250	1.5	75.7	73	74.35	0.29		
10	500	0.5	278.4	285.9	282.15	0.56	0.59	0.027
11	500	0.5	298.1	298.3	298.2	0.59		
12	500	0.5	301.1	316.2	308.65	0.62		
13	500	1	163.4	160.1	161.75	0.32	0.39	0.07
14	500	1	194.5	183.9	189.2	0.38		
15	500	1	245.5	221.8	233.65	0.47		
16	500	1.5	90.1	94.2	92.15	0.18	0.24	0.06
17	500	1.5	111.8	110.2	111	0.22		
18	500	1.5	161.9	143.5	152.7	0.31		

Initial indicates rocuronium in the solution; Assay 1 and Assay 2, rocuronium concentrations obtained in 2 replications of the experiment for each point of analysis; Average, average of 2 replications of the assay; Ratio, recovery capacity of the system (mean/initial); Mean Ratio and SD, mean and SD of the 3 ratios for each of the 3 means for each flow rate.

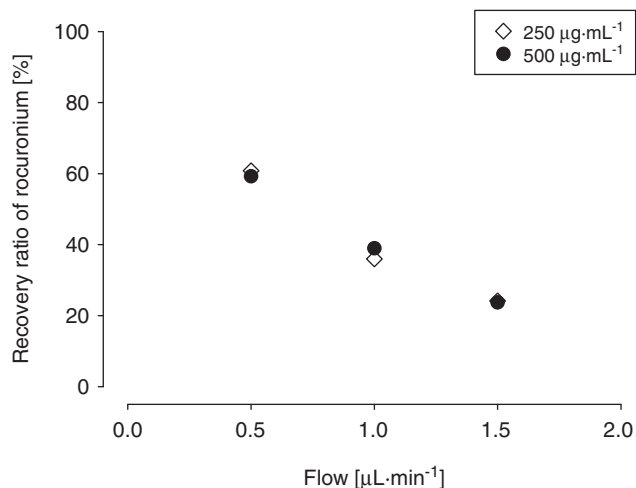


FIGURE 1. In the in vitro study measurements were made to ascertain the ability of the system to recover rocuronium at different flow rates and using 2 different drug concentrations. A strong linear relationship was observed between the flow rate and the recovery rate; the recovery rate fell as flow rate increased and vice versa.

24% at 0.5, 1, and 1.5 µL/min flow rates, respectively. Almost identical results were obtained with a concentration of rocuronium of 500 µg/mL. The relationship between the infusion flow rate and the extraction rate of the drug is shown in Figure 1.

Clinical Study

Demographics, clinical data, duration of rocuronium infusion, and surgery are reported in Table 2, there were no significant differences between the 2 study groups. Regarding mean central and peripheral temperature no differences were detected between both groups of patients. Total proteins, albumin, and α-1-acid glycoprotein levels were also similar (Table 3). The mean (SD) phenytoin concentration was 10.4 mg/L (8.1).

The mean doses of rocuronium administered in the initial bolus were 65 mg (9.3) and 66.7 mg (12.2) for phenytoin-treated patients and controls, respectively. Infusion rates were significantly higher in the group of patients treated with phenytoin [24.9 µg/kg/min (6.5)] than in controls [14.2 µg/kg/min (2.6) (*P* < 0.001)] (Fig. 2). There were no significant differences in plasma concentrations of rocuronium between patients treated with phenytoin [747.7 ng/mL (812)] and patients in the control group [808.9 ng/mL (525)].

Rocuronium was measured in 25 microdialysate samples, 13 from phenytoin-treated patients and 12 from controls. Owing to technical difficulties with the sampling, it was not possible to detect rocuronium in dialysate samples from 1 patient in the phenytoin group.

No rocuronium was detected in any of the 16 baseline samples. The concentrations of rocuronium that reached the muscle were calculated, taking into consideration the extraction fraction of the system, and

TABLE 2. Demographic Characteristics of the Patients and Dosing

Diagnosis	Sex	Age (y)	Weight (kg)	Height (cm)	CPT (d)	DXM	Concomitant Disease	Bolus (mg)	Infusion (µg/kg/min)	PD (min)	SD (min)
Tumor, left hemisphere	Male	48	64	185	20	No	—	60	22.54	235	420
Suprasellar tumor	Male	19	76	176	134	Yes	Hypothyroidism	70	23.28	230	360
AV malformation, left temporal lobe	Male	47	84	184	480	No	—	80	22.28	220	370
Tumor, right hemisphere	Male	47	76	180	17	No	—	70	25.63	220	330
Tumor, right hemisphere	Female	40	61	166	7	No	—	60	21.65	185	330
Giant left meningioma	Female	77	52	159	360	No	—	50	19.56	170	540
Tumor, right hemisphere	Female	30	62	176	360	No	—	60	40.46	110	220
Tumor, right hemisphere	Male	53	74.5	170	30	Yes	—	70	23.65	120	255
Tumor, left hemisphere	Female	61	60	168	No	Yes	—	60	16.77	105	280
Tumor, left hemisphere	Female	48	53.5	156	No	No	—	50	13.84	105	280
Tumor, right hemisphere	Male	35	92	182	No	Yes	—	80	11.86	150	300
Tumor, right hemisphere	Male	76	65	165	No	No	Diabetes	60	18.13	75	360
Tumor, right hemisphere	Male	55	71	179	No	Yes	—	70	13.93	135	300
Tumor, interhemispheric	Female	61	86	158	No	No	Hypertension, diabetes, depression	80	16.42	110	420
Tumor, posterior fossa	Female	59	75	163	No	No	Hypertension	70	10.55	150	450
Tumor, pineal gland	Female	38	52	162	No	No	—	50	11.46	145	360
Tumor, left hemisphere	Male	52	87	170	No	No	—	80	14.75	130	270

Total dose infused has been normalized to weight and averaged to the minutes of infusion duration. AV indicates arteriovenous; CPT, chronic phenytoin therapy; DXM, dexamethasone treatment; PD, perfusion duration; SD, surgery duration.

TABLE 3. Serum Concentrations

	Treated With Phenytoin (n = 8)	Controls (n = 9)
Total protein (g/L)	60.7 ± 4.9	61.9 ± 4.6
Albumin (g/L)	38.2 ± 3	39.2 ± 2.3
Alpha-1-acid glycoprotein (g/L)	1.1 ± 0.8	0.8 ± 0.2

found to be similar in the 2 study groups. The mean (SD) concentrations of rocuronium in muscle were 304 ng/mL (159) in controls and 203 ng/mL (116) ($P = 0.08$) (Fig. 3). Rocuronium determination was feasible at both 3 and 1-hour intervals between sampling. Concentrations of rocuronium were also similar for the 3 and 1-hour schedules [314.6 ng/mL (137) vs. 229.2 ng/mL (144.7)] ($P > 0.05$).

A minor complication attributable to microdialysis was recorded in only 1 patient, who developed a hematoma in the thigh. The lesion resolved spontaneously.

DISCUSSION

This study shows that determination of interstitial muscle concentrations of rocuronium in microdialysis samples is a feasible technique. To our knowledge, this type of measurement had only been carried out in animal models.²¹⁻²³ Measurement of drugs at their site of action is usually based on indirect estimation using mathematical models (PK-PD models) whereas the present work shows how it is possible to measure it directly in the

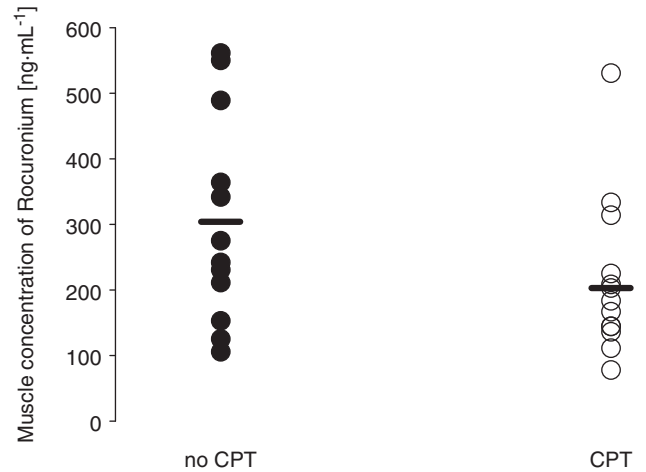


FIGURE 3. Muscle concentrations of rocuronium in the control and CPT groups. Black dots correspond to the muscle concentrations for each individual of the CPT group and white dots to the control group. The thick black horizontal bar represents the average interstitial concentration of rocuronium. No statistically significant differences in concentrations of rocuronium in muscle were observed.

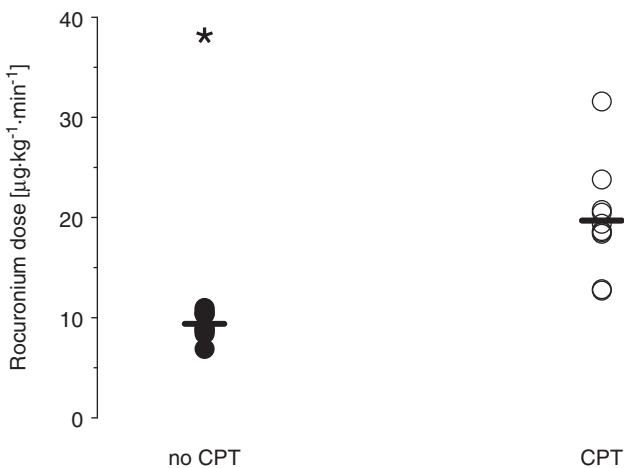


FIGURE 2. Infused doses in the control and CPT groups. Black dots correspond to the mean infusion rate for each individual of the CPT group and white dots to the control group. The thick black horizontal bar represents the average infusion rate. Dosing is significantly different and higher in the CPT group than in the control group ($P < 0.05$). CPT indicates chronic phenytoin therapy.

site of drug effect, which can be useful for clinical pharmacology studies.

To analyze the extraction rate of the system in humans, it is first necessary to test the extraction of rocuronium samples by microdialysis in vitro, as was carried out in a dog model by Ezzine et al.²² Although the design of our study was similar to theirs, these authors reported a rocuronium recovery rate of 83% at a flow rate of 1 µL/min, which was much higher than the 40% found in our study at the same flow rate. Differences in the catheter they used (a 10 mm long polyether sulfone tubular membrane with a permeability cutoff of 35 kDa and an outer diameter of 0.6 mm) and the solution (Ringer lactate) may account for the differences. In our in vitro study, we also found that the recovery rate of rocuronium remained almost unchanged and was independent of the drug concentration in the dialysate and the time interval between sampling. As expected, a low pump infusion rate was associated with a higher recovery of rocuronium than that observed with a high infusion rate. Thus, the highest recovery rate (approximately 60%), was recorded at the pump flow rate of 0.5 µL/min. However, a flow rate of 1 µL/min, with a recovery ratio of approximately 36%, was selected. The reason for this choice was that, at half the pump flow rate, the time taken to collect a sample with a detectable amount of drug would have been so long that very few samples would have been collected in each operation.

Ezzine and Varin²³ tried to establish a relationship between plasma and tissue drug concentrations using PK-PD models. These authors concluded that concentrations of free rocuronium in the muscle interstitial fluid were equivalent to the concentrations predicted for peripheral compartments by PK-PD models, although their model

was based on data of dogs rather than humans. In this study, it was not possible to establish a relationship between plasma concentrations, tissue concentrations, and effect because it was not possible to maintain a steady perfusion lasting longer than 1 or 3 hours depending on the microdialysis sampling. This was due to clinical reasons because at some intervals during surgery a deeper degree of blockade was required.

We were successful in measuring tissue concentrations every hour; therefore, the shorter interval makes it feasible to collect more samples in a steady-state condition during this kind of surgery. This finding means that future studies can consider a design with more samples in steady state, thus making it possible to establish in humans the relationship that Ezzine et al²² reported in the dog. Estimations provided by the in vitro model indicated that muscle concentrations of rocuronium were very close to the limits of detection of the system. For this reason, higher infusion rates were not chosen. Although the same microdialysate volume could have been obtained in a shorter time, which would allow the collection of a larger number of samples, rocuronium might not have been detected in any of the samples due to a very low concentration.

Differences between in vivo and in vitro results may also be present as has been reported by other authors. Ezzine et al²² suggested that differences between in vitro and in vivo results may arise because changes in the permeability of the microdialysis membrane may occur in vivo and that such events are difficult to predict. De Lange et al²¹ also emphasized that although changes in the integrity of the membrane tend to be minimal, these changes can occur.

Measurement of concentrations of neuromuscular blocking agents in muscle provides a novel approach to study the clinical problem of patients on chronic treatment with phenytoin who require considerably higher doses of rocuronium to achieve the same effect. This requirement has been reported by other authors,^{3,12,14,17,24–29} although muscle rocuronium concentrations have not been previously examined. In this study, we found that phenytoin-treated patients required significantly higher infusion rates of rocuronium to achieve interstitial muscle drug concentrations that were similar to those found in controls, supporting the hypothesis that PK changes, rather than changes at the receptor level may be responsible for the increased rocuronium requirement in these patients.

Several authors consider that chronic administration of phenytoin with respect to “resistance” to the effects of neuromuscular blocking agents (NMBA) can be defined when patients are in phenytoin treatment for at least one week. This was our inclusion criteria. At the time the study was performed we had only the blood sample drawn but not the actual levels of phenytoin, so we could not assess how well patients were into the recommended therapeutic range. In any case all of them were at least in 7 day phenytoin therapy. In contrast, the therapeutic range for phenytoin in adults is 10 to 20 mg/L. In our patients the phenytoin levels was 10.4 mg/L (8.1).

The influence of corticoid therapy in the effects of NMBA has also been demonstrated. It has been described that even severe syndromes like the acute quadriplegic myopathy,^{30,31} can be caused by the combination of both drugs although it is more obvious when NMBA is administered for several days and the doses of corticosteroids are high. Even though some patients were under dexamethasone treatment in our case it was not possible to detect any complication that could be attributed to the combination of corticosteroids and NMBA.

The present findings, however, should be interpreted taking into consideration some limitations of the study, including the small number of patients in the study and the fact that microdialysate samples were collected at 2 different time intervals (1 and 3 h). Moreover, collection of samples in a situation of equilibrium between plasma and biophase was not always possible because of difficulties inherent to anesthetic practice during surgery. On top of this tissue concentrations of rocuronium are very small and close to the limit of detection of the quantification technique which might add some variability to the measures of rocuronium in microdialysate.

In conclusion, quantification of drug concentrations in muscle by means of microdialysis is technically feasible in the clinical setting and it might help in studying pharmacologic mechanisms of drug action in real patients. On the basis of our results the decrease in the degree of effect of rocuronium in the presence of chronic phenytoin therapy might seem to be due mainly to a PK mechanism in agreement with our previous findings.¹²

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Marta Pulido, MD, for editing the manuscript and editorial assistance. E. W. Orr and M. E. Kerans provided translation of a version of the manuscript.

REFERENCES

1. Booij LH, Knape HT. The neuromuscular blocking effect of Org 9426. A new intermediately-acting steroidal non-depolarising muscle relaxant in man. *Anaesthesia*. 1991;46:341–343.
2. Proost JH, Eriksson LI, Mirakhor RK, et al. Urinary, biliary and faecal excretion of rocuronium in humans. *Br J Anaesth*. 2000;85:717–723.
3. Soriano SG, Martyn JA. Antiepileptic-induced resistance to neuromuscular blockers: mechanisms and clinical significance. *Clin Pharmacokinet*. 2004;43:71–81.
4. Araki H, Ogake N, Minami S, et al. Application of muscle microdialysis to evaluate the concentrations of the fluoroquinolones pazufloxacin and ofloxacin in the tissue interstitial fluids of rats. *J Pharm Pharmacol*. 1997;49:1141–1144.
5. Hansen DK, Davies MI, Lunte SM, et al. Pharmacokinetic and metabolism studies using microdialysis sampling. *J Pharm Sci*. 1999;88:14–27.
6. Tegeder I, Schmidtke A, Brautigam L, et al. Tissue distribution of imipenem in critically ill patients. *Clin Pharmacol Ther*. 2002;71:325–333.
7. Globus MY, Busto R, Dietrich WD, et al. Effect of ischemia on the in vivo release of striatal dopamine, glutamate, and gamma-aminobutyric acid studied by intracerebral microdialysis. *J Neurochem*. 1988;51:1455–1464.
8. Kendrick KM, Leng G. Haemorrhage-induced release of noradrenaline, 5-hydroxytryptamine and uric acid in the supraoptic

- nucleus of the rat, measured by microdialysis. *Brain Res.* 1988;440:402–406.
9. Hammarlund-Udenaes M, Paalzow LK, De Lange EC. Drug equilibration across the blood-brain barrier—pharmacokinetic considerations based on the microdialysis method. *Pharm Res.* 1997;14:128–134.
 10. Hammarlund-Udenaes M. The use of microdialysis in CNS drug delivery studies. Pharmacokinetic perspectives and results with analgesics and antiepileptics. *Adv Drug Deliv Rev.* 2000;45:283–294.
 11. Hernandez-Palazon J, Tortosa JA, Martinez-Lage JF, et al. Rocuronium-induced neuromuscular blockade is affected by chronic phenytoin therapy. *J Neurosurg Anesthesiol.* 2001;13:79–82.
 12. Fernadez-Candil J, Gambus PL, Troconiz IF, et al. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the influence of chronic phenytoin therapy on the rocuronium bromide response in patients undergoing brain surgery. *Eur J Clin Pharmacol.* 2008;64:795–806.
 13. Alloul K, Whalley DG, Shutway F, et al. Pharmacokinetic origin of carbamazepine-induced resistance to vecuronium neuromuscular blockade in anesthetized patients. *Anesthesiology.* 1996;84:330–339.
 14. Wright PM, McCarthy G, Szenohradszy J, et al. Influence of chronic phenytoin administration on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of vecuronium. *Anesthesiology.* 2004;100:626–633.
 15. Ungerstedt U. Microdialysis—principles and applications for studies in animals and man. *J Intern Med.* 1991;230:365–373.
 16. Chaurasia CS, Muller M, Bashaw ED, et al. AAPS-FDA workshop white paper: microdialysis principles, application and regulatory perspectives. *Pharm Res.* 2007;24:1014–1025.
 17. Roy JJ, Varin F. Physicochemical properties of neuromuscular blocking agents and their impact on the pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship. *Br J Anaesth.* 2004;93:241–248.
 18. Fuchs-Buder T, Claudius C, Skovgaard LT, et al. Good clinical research practice in pharmacodynamic studies of neuromuscular blocking agents II: the Stockholm revision. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2007;51:789–808.
 19. Viby-Mogensen J, Ostergaard D, Donati F, et al. Pharmacokinetic studies of neuromuscular blocking agents: good clinical research practice (GCRP). *Acta Anaesthesiol Scand.* 2000;44:1169–1190.
 20. Kleef UW, Proost JH, Roggevelde J, et al. Determination of rocuronium and its putative metabolites in body fluids and tissue homogenates. *J Chromatogr.* 1993;621:65–76.
 21. De Lange EC, De Boer AG, Breimer DD. Methodological issues in microdialysis sampling for pharmacokinetic studies. *Adv Drug Deliv Rev.* 2000;45:125–148.
 22. Ezzine S, Yamaguchi N, Varin F. Determination of interstitial rocuronium concentrations in the muscle tissue of anesthetized dogs by microdialysis. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2004;49:121–129.
 23. Ezzine S, Varin F. Interstitial muscle concentrations of rocuronium under steady-state conditions in anaesthetized dogs: actual versus predicted values. *Br J Anaesth.* 2005;94:49–56.
 24. Jellish WS, Thalji Z, Brundidge PK, et al. Recovery from mivacurium-induced neuromuscular blockade is not affected by anticonvulsant therapy. *J Neurosurg Anesthesiol.* 1996;8:4–8.
 25. Ornstein E, Matteo RS, Schwartz AE, et al. The effect of phenytoin on the magnitude and duration of neuromuscular block following atracurium or vecuronium. *Anesthesiology.* 1987;67:191–196.
 26. Richard A, Girard F, Girard DC, et al. Cisatracurium-induced neuromuscular blockade is affected by chronic phenytoin or carbamazepine treatment in neurosurgical patients. *Anesth Analg.* 2005;100:538–544.
 27. Soriano SG, Sullivan LJ, Venkatakrishnan K, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of vecuronium in children receiving phenytoin or carbamazepine for chronic anticonvulsant therapy. *Br J Anaesth.* 2001;86:223–229.
 28. Spacek A, Neiger FX, Krenn CG, et al. Rocuronium-induced neuromuscular block is affected by chronic carbamazepine therapy. *Anesthesiology.* 1999;90:109–112.
 29. Tempelhoff R, Modica PA, Jellish WS, et al. Resistance to atracurium-induced neuromuscular blockade in patients with intractable seizure disorders treated with anticonvulsants. *Anesth Analg.* 1990;71:665–669.
 30. MacFarlane IA, Rosenthal FD. Severe myopathy after status asthmaticus. *Lancet.* 1977;2:615.
 31. Gehr LC, Sessler CN. Neuromuscular blockade in the intensive care unit. *Semin Respir Crit Care Med.* 2001;22:175–188.

6. DISCUSIÓN

En el trabajo que presentamos, hemos podido establecer una relación entre las dosis administradas, las concentraciones de fármaco a nivel plasmático y el efecto que ejerce el bromuro de rocuronio utilizando para ello la aproximación poblacional mediante análisis no lineal de efectos mixtos (NONMEM). Este tipo de aproximación es compleja,¹³⁰ pero supone un método mucho más lógico, además de contrastado y fiable ya que no estudia a cada individuo de forma “aislada” sino lo tiene en cuenta englobado en el conjunto de la población. De esta forma es posible determinar el valor “real”, el que correspondería a la población, de cada uno de los parámetros que definen el modelo así como una estimación de la variabilidad (interindividual o intraindividual) y la identificación de los factores que puedan contribuir a dicha variabilidad.¹⁵¹

En la literatura existen múltiples trabajos que estudian el PK y/o PD del bromuro de rocuronio. De todos ellos, hemos seleccionado los que hemos considerado más representativos para poder establecer una comparación con nuestros resultados (**Tabla 9**). Hemos descartado estudios donde el objetivo principal era determinar la PK, como por ejemplo, Szenohradzky et al¹⁸², McCoy et al⁸⁶, Cooper et al¹⁹⁰, Khuenl-Brady et al^{191,192}... También hemos descartado los estudios en que los pacientes se encontraban en los extremos de edad, tanto en niños^{81,193,194} como en ancianos¹⁹⁵, para poder establecer la comparación entre adultos (franja de edad similar). También, para tratar de unificar en lo posible las características demográficas de los pacientes, hemos excluido los pacientes que se encontraban en una unidad de cuidados intensivos.¹³⁷ Como se puede apreciar en las tablas 1 y 2 del primero de los trabajos que presentamos, no existen diferencias significativas en cuanto a la demografía ni los factores covariables estudiados en nuestra muestra.¹⁷⁹ Por último, de entre los artículos restantes, hemos seleccionado los que presentaban más similitudes con nuestro trabajo, y a ser posible, si presentaban una aproximación poblacional sobre este tema.

	Fernández-Candil et al¹⁷⁹	Kuipers et al¹⁴⁷	Plaud et al⁴⁷	van Miert et al¹³⁸	Dragne et al⁶⁶	Dragne et al⁶⁶
Año de publicación	2008	2001	1995	1997	2002	2002
Número de pacientes estudiados	21	15	8	38	10	10
Tipo de anestesia (hipnótico empleado)	iv (Propofol)	iv (Propofol)	iv (Propofol)	Balanceda (pentotal e isoflurano)	iv (Propofol)	Inhalatoria (Isoflurano)
Bolus de BNM	3·DE ₉₅	1·DE ₉₅	Infusión sin bolus	2·DE ₉₅	1.7·DE ₉₅	1.7·DE ₉₅
Monitorización del BNM	EMG	AMG	AMG	EMG	MMG	MMG
Análisis de datos	Programa NONMEM	Programa SAAM II	Programa MultiFit	Programa NONMEM	Programa WinNonlin	Programa WinNonlin
Parámetros PK						
V₁ (L)	4,04	6,76	3,92	3,28	2,66	2,45
V₂ (L)	5,34	3,73	16,06	4,70	5,10	3,99
V₃ (L)	4,93			7,50	6,52	6,65
Cl₁ (L·min⁻¹)	0,26	0,5	0,68	0,26	0,31	0,29
Cl₂ (L·min⁻¹)	0,36	0,43	0,39	0,61	0,54	0,74
Cl₃ (L·min⁻¹)	0,04			0,08	0,07	0,08
k_{e0}	0,07	0,24	0,17	0,16	0,14	0,09
Parámetros PD						
C_{e50} (ng·mL⁻¹)	836	684	823	1030	1008	592
γ (gamma)	3,13	8,96	4,79	5,37	4,43	4,04
Inicio acción						
T_{pico} (min)	11,23	6,09	4,72	5,96	5,44	9,16
Tiempo hasta el 90% del efecto (min)	3,20	0,67	0,88	0,93	0,93	0,82
Duración 25 (min)	50	37	18	40	34	57
Índice de recuperación (min)	31	6	5	15	16	18

Tabla 9: Artículos publicados más representativos de los modelos PKPD del rocuronio en adultos.

iv = anestesia intravenosa; DE₉₅= Dosis eficaz 95: Es la dosis necesaria para producir un efecto determinado en el 95% de la población.⁸ En el caso de los BNM se considera que 2 DE₉₅ es la dosis necesaria para producir la relajación de las estructuras anatómicas y permitir una adecuada intubación traqueal siempre que el tiempo sea también el adecuado.¹⁸ Onset: Tiempo de bloqueo máximo; min=minutos, EMG=Electromiografía; AMG=Aceleromiografía; MMG=Mecanomiografía;

Como se desprende de la tabla anterior, la distribución del bromuro de rocuronio se explica de forma adecuada mediante un modelo tricompartmental cuyos parámetros PK están de acuerdo con los del resto de autores. Sin embargo, en relación a los parámetros PD, existen algunas discrepancias con los valores reportados en otros artículos. Esta discrepancia resulta muy evidente en las cifras de k_{e0} . Una k_{e0} alargada supone un inicio de acción, duración y recuperación más prolongadas. Existen múltiples razones que pueden explicar las variaciones en torno a esta constante, como son diferencias que pudieran existir en algunos de los siguientes puntos:

- Método de adquisición de la señal.
- Sistema de registro del efecto (EMG vs AMG)
- Parámetro de monitorización neuromuscular usado para el modelo PD (T1%, TOF%,...)
- Temperatura corporal mantenida durante el procedimiento quirúrgico.
- Diseño del estudio, especialmente:
 - o Método de administración del fármaco (bolus, infusión continua constante o variable o combinación de ambas)
 - o Momento de la anestesia escogido para estudiar el efecto (inducción, mantenimiento...).
- Papel del bolus inicial.

Este último punto merece una mención especial ya que en nuestro trabajo, los pacientes recibieron un bolus inicial de gran magnitud ($3 \cdot ED_{95\%}$) debido a tres motivos fundamentalmente:

- Requerimientos clínicos relacionados con el bloqueo neuromuscular en pacientes sometidos a cirugía cerebral. Se trata de pacientes en los que la inmovilidad es crucial durante todo el procedimiento anestésico y quirúrgico. Además, en muchos de ellos es importante el concepto de “cráneo relajado”, especialmente en casos en los que la presión intracraneal se halla en cifras límite.
- Amplia descripción en la literatura de que los pacientes en tratamiento con antiepilépticos tienen mayor riesgo de bloqueo insuficiente durante la inducción, debido a una mayor eliminación del BNM.

- Sensibilidad diferente al efecto de los BNM en función del grupo muscular donde se realiza la monitorización. Así, el T1% medido en el músculo adductor del pulgar puede alcanzar un efecto del 100%, mientras que a nivel de los músculos laríngeos el nivel no alcanza el 90% del mismo y además lo hace durante un periodo de tiempo significativamente menor que el adductor del pulgar.

Un bolus de gran magnitud puede aumentar el sesgo y la variabilidad en la estimación de la k_{e0} , ya que incrementa el tiempo en que no se detecta respuesta, de forma que se obtienen menos datos durante esta fase que relacionen concentraciones plasmáticas y efecto. Por otro lado, existen una serie de publicaciones que muestran una relación inversamente proporcional entre la dosis administrada y la k_{e0} . Bergeron et al¹⁹⁶ estudiaron el PKPD del cisatracurio usando tres dosis distintas para el bolus. Encontraron que había una relación directa entre la dosis y la C_{e50} además de la ya mencionada relación inversa con la k_{e0} . Chen et al¹⁹⁷ encontraron resultados muy similares en animales, para el efecto del mismo BNM. Posiblemente sean necesarios más estudios en este sentido y concretamente algunos centrados en el bromuro de rocuronio, pero parece muy factible que la forma de administrar el bolus del BNM puede afectar a su efecto.

Por otro lado el uso de un modelo sigmoidal E_{max} podría no ser el adecuado para modelar aquellos datos en los que el efecto supramáximo es alcanzado ya que el 100% del efecto real podría no corresponder con el medido. Cuando se administra un bolus suficientemente grande, la medición del efecto es 0 durante un tiempo, aunque no es posible precisar mediante el TOF cual es la intensidad exacta del efecto.

Por todos estos motivos, se ha de ser muy cauto a la hora de extrapolar los datos obtenidos mediante nuestro modelo para poder establecer comparaciones con otros trabajos o incluso con la práctica clínica habitual, donde generalmente se utilizan $2 \cdot ED_{95\%}$ ya que suele ser una dosis suficiente para conseguir buenas condiciones de intubación traqueal en la mayoría de los casos.¹⁴ De todas formas, lo que sí parece razonable, es comparar estos datos con otros trabajos en los que el bolus sea de una magnitud similar, y por supuesto, es posible comparar el grupo con TCF y el control en el trabajo que presentamos,¹⁷⁹ dado que ambos grupos recibieron un bolus de $3 \cdot ED_{95\%}$.

Estas discrepancias encontradas para la k_{e0} entre los diferentes autores, no aparecen en los valores de la C_{e50} , es decir, la estimación de la potencia del bromuro de rocuronio es consistente con la reportada por otros autores.^{138,147}

De cara a la realización de nuevos estudios similares en un futuro, parece recomendable utilizar un bolus estándar ($2 \cdot ED_{95\%}$), ya que a pesar de la obtención de condiciones óptimas para este tipo de pacientes con un bolus de mayor magnitud, resulta más complicado comparar con otros trabajos existentes en la literatura y con la práctica habitual. La construcción de modelos PKPD mediante aproximación poblacional parece la más indicada según la bibliografía existente, a pesar de las dificultades que entraña su aplicación, motivo por el cual recomendamos su uso en los trabajos sucesivos en este ámbito.

Se ha podido caracterizar la influencia del TCF sobre el PKPD del rocuronio. De esta forma se ha podido dar respuesta a la hipótesis de nuestro trabajo: **la resistencia a los efectos BNM del bromuro de rocuronio en pacientes tratados de forma crónica con fenitoína se debe a mecanismos farmacocinéticos y no farmacodinámicos.**

En el primer estudio que presentamos¹⁷⁹, se demuestra que los pacientes bajo TCF requieren una dosis significativamente mayor de rocuronio para mantener un nivel adecuado de efecto BNM. Se ha utilizado la aproximación de modelos poblacionales PKPD para explorar a qué nivel (PK y/o PD) afecta la TCF sobre el bloqueo neuromuscular del rocuronio y hemos demostrado que de todas las covariables estudiadas, la única que se ha mostrado estadísticamente significativa ha sido la TCF expresada como variable cualitativa (presencia o ausencia de TCF), incrementándose en su presencia el valor del Cl_1 de 0,25 a 0,75 L·min⁻¹. Este hallazgo tiene relevancia clínica ya que, aunque este fenómeno de resistencia era conocido en la literatura,^{106,124} es la primera vez que se confirma el nivel de la interacción entre el bromuro de rocuronio y la fenitoína desde una aproximación poblacional.

Como ya se ha comentado, esta interacción entre anticomiciales y BNM, es compatible con el conocimiento clínico y los trabajos de otros autores (véase **Tabla 6** en el apartado 2.3). Lo que no está todavía aclarado es el nivel en el cual se produce dicha interacción. La interacción a nivel PK debida al incremento del metabolismo hepático y aclaramiento por inducción enzimática que produce el anticomicial, parece clara al estar avalada por múltiples publicaciones para diferentes BNM^{90,119,120,128} y algunas más concretamente para el bromuro de rocuronio, incluyendo la nuestra.^{106,121,179}

Sobre el resto de los mecanismos que tratan de explicar dicha interacción existe una mayor discrepancia en la literatura. En relación al incremento de la unión a proteínas por parte del BNM y que daría como resultado una disminución de la fracción

libre de fármaco, se ha de resaltar que algunos autores han hallado correlación entre la TCF y los niveles de AAG¹⁰⁴. En nuestro caso, no se ha demostrado tal correlación con las concentraciones de fenitoína ni con la duración de TCF, coincidiendo con lo reportado por otros autores.^{107,109,111,198}

En relación al mecanismo PD (cambios directos a nivel del receptor), también hay autores que muestran resultados en ambos sentidos. Wright et al⁹⁰ han demostrado el efecto de la TCF sobre la C_{e50} del vecuronio, sin embargo Alloul et al¹²⁰ no pudieron detectar cambios en la potencia del mismo BNM en presencia de carbamazepina. Previamente a nuestra publicación, no se ha reportado ninguna referencia a la afectación de la TCF sobre la potencia del bromuro de rocuronio. De acuerdo con nuestros resultados, ni la TCF ni ninguna otra covariable afecta a la potencia del rocuronio. Tal vez sean necesarios más estudios en este sentido para tratar de aclarar el papel que juegan los anticomiciales a nivel del RnAch.

Con la idea de poder aplicar en la práctica diaria los resultados obtenidos en este tipo de estudios con modelos PKPD, tal y como hemos realizado en nuestro trabajo,¹⁷⁹ recomendamos la realización de simulaciones (en nuestro caso realizadas con el programa PKPDTools For Excel) que permitan comparar de forma relativamente sencilla los indicadores clínicos más representativos (“Clinically Relevant Endpoints”) en los diferentes grupos de pacientes. En primer lugar se han de definir los que se consideran más apropiados para describir el curso del efecto del fármaco a estudiar para posteriormente poder aplicar los datos obtenidos del modelo. En nuestro caso, los indicadores seleccionados fueron los siguientes (véanse definiciones en el apartado 2.2.4.3.):

- Indicadores relacionados con el inicio del efecto:
 - $T_{10\%}$: Dosis-dependiente (a mayor dosis, menor $T_{10\%}$).
 - T_{PE} (time to “Peak Effect”): Dosis-independiente.⁵⁶
- Indicadores relacionados con la duración y la recuperación del efecto:
 - “Duration $T_{25\%}$ ”
 - “Offset $T_{25\%-75\%}$ ”

Las gráficas que representan el curso temporal del efecto tras un bolus $3 \cdot ED_{95}$ para un paciente típico de 70 Kg, con y sin TCF muestran de forma visual las diferencias en ambos casos (véase página 805 de nuestro primer trabajo).

En dicha gráfica se puede observar la influencia de la TCF sobre el bolus de rocuronio ya que en el caso de TCF se tarda más tiempo en alcanzar el efecto deseado. El hecho de que se produzca un incremento en el Cl_1 en los sujetos con TCF hace que haya menos fármaco disponible para alcanzar la biofase y el efecto es menos intenso y con menor duración (recuperación más rápida). Por este motivo, el T_{PE} , un indicador dosis independiente del inicio del efecto, indica un tiempo inferior para alcanzar el efecto máximo en el grupo TCF. Las simulaciones realizadas permiten establecer comparaciones entre el grupo TCF y control, pero deben tomarse con una cierta precaución pues nuestras estimaciones de k_{e0} parecen ser dependientes de la dosis administrada así que nuestros resultados podrían ser sólo válidos con dosis similares.

Estas simulaciones suponen otra forma de mostrar, más gráficamente en este caso, que los pacientes sometidos a TCF tienen una duración del efecto más corta y, por tanto, una recuperación más rápida del efecto BNM, o dicho de otra forma, para mantener el mismo efecto, han de incrementarse las dosis.

Sobre el segundo trabajo que presentamos,¹⁸⁶ se ha de destacar que hemos podido detectar y cuantificar bromuro de rocuronio en el intersticio muscular, muy cercano a su lugar de efecto mediante la técnica de la microdiálisis, lo que sin duda, abre la posibilidad a un abordaje novedoso en la relación del efecto y la concentración en biofase. Es la primera vez que se realiza este tipo de cuantificación en humanos, ya que en la literatura existen únicamente dos trabajos realizados en perros.^{164,165}

Una aplicación práctica de la detección de bromuro de rocuronio en el músculo humano ha sido el confirmar los resultados obtenidos en nuestro trabajo previo, aunque desde un punto de vista completamente distinto al que nos ofrecen los modelos teóricos matemáticos. En nuestro segundo trabajo, hemos conseguido demostrar con una medición directa gracias a la microdiálisis, que los pacientes sometidos a TCF presentan concentraciones titulares similares de rocuronio pero a expensas de precisar dosis significativamente superiores. La medición de rocuronio en un lugar muy cercano a la biofase proporciona una nueva aproximación de cara a resolver porqué sucede este fenómeno, ya que parece confirmarse la teoría de que las modificaciones se producen a nivel PK, es decir, llega menos fármaco al lugar de acción.

En relación a la interacción entre el bromuro de rocuronio y la fenitoína, no es posible comparar nuestro estudio con ninguno previo, puesto que a pesar de que este fenómeno ha sido muy estudiado (tal y como se ha descrito con anterioridad a lo largo de esta tesis doctoral), ningún autor ha empleado la técnica de la microdiálisis para tratar de discernir cuál es la causa de la influencia de la TCF sobre la resistencia a los efectos del bromuro de rocuronio.

De cara al planteamiento de nuevos trabajos en los que se utilice la técnica de la microdiálisis para tratar la interacción entre fármacos, se ha de tener en cuenta que es muy importante determinar con exactitud el lugar de posicionamiento de la sonda. Con la finalidad de poder obtener resultados útiles, la situación ideal para recoger la muestra debería ser lo más próxima posible al lugar donde el fármaco ejerce su acción, cosa que limita el tipo de medicamentos a estudiar, ya que no siempre es posible tener un acceso relativamente sencillo a cualquier tejido. En este sentido, los BNM son fármacos casi ideales ya que el acceso al tejido muscular es bastante sencillo a pesar de las dificultades que entraña un montaje clínico en un quirófano con pacientes reales. En nuestro caso, utilizamos la ecografía para asegurar el correcto posicionamiento del catéter. Recomendamos la utilización de ésta o cualquier otra técnica para verificar que la posición del mismo es óptima ya que de ello dependerá en gran medida que las conclusiones obtenidas sean adecuadas.

Por último, y también en referencia a la interacción entre fármacos, es necesario comentar la posible influencia que pueden ejercer los corticoides sobre los BNM ya que en nuestro caso no fueron criterio de exclusión. Está bien descrita la relación entre el uso de BNM durante un periodo prolongado de tiempo asociado a dosis altas de corticoides y la aparición de síndromes como la miopatía cuadripléjica aguda.¹⁹⁹ En nuestro caso, ni el uso de corticoides fue a dosis elevadas, ni la administración de BNM se hizo durante un periodo prolongado (sino que fue limitado a la duración de la intervención). No se detectó ninguna complicación atribuible al uso conjunto de BNM y corticoides.

El último objetivo planteado en nuestro trabajo consistía en validar el concepto de biofase para el bromuro de rocuronio en humanos. En este caso, dicho concepto no ha podido validarse, fundamentalmente debido a las dificultades derivadas de la aplicación de la técnica en intervenciones quirúrgicas en pacientes. Para poder establecer una relación adecuada entre las predicciones realizadas mediante modelos

PKPD y las mediciones directamente conseguidas mediante la técnica de la microdiálisis, resulta como condición indispensable conseguir un estado de equilibrio (“Steady State”). A diferencia de la cuantificación de las concentraciones plasmáticas de fármaco, las concentraciones en tejido no reflejan la concentración en un momento puntual, sino que representan la concentración en un período de tiempo de mayor o menor magnitud. Debido a la esencia misma de la técnica, la muestra recogida en un microvial se corresponde a la media de la concentración tisular durante todo el tiempo que transcurre entre la recogida de muestras, que en nuestro caso fue de 1 o 3 horas. La velocidad a la que infundía la bomba ($\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$), requería estos tiempos de recogida para garantizar la obtención de una muestra suficiente. Mantener un estado de equilibrio durante 1 hora (y mucho menos 3 horas) durante una craneotomía con humanos resulta muy complejo, ya que la relajación muscular, al igual que el resto de componentes de la anestesia, se han de ir adecuando a las necesidades del procedimiento.

Ezzine et al¹⁶⁴, realizando un diseño similar al nuestro pero utilizando perros, sí que consiguen establecer una relación entre las concentraciones reales obtenidas mediante microdiálisis y las calculadas mediante los modelos PKPD. Parece obvio que en un diseño con animales no sujetos a las necesidades de una intervención neuroquirúrgica, resulta más factible conseguir un estado de equilibrio de la suficiente magnitud como para permitir recoger una muestra de microdializado en un determinado tiempo (40 minutos en su caso) y que ésta se corresponda con un efecto constante durante todo ese tiempo. Reproducir esta situación en la realidad del quirófano con pacientes resulta mucho más complejo. Ezzine et al¹⁶⁴ concluyen que las concentraciones de rocuronio libre medidas en el fluido intersticial muscular en condiciones de equilibrio son equivalentes a las predichas para el compartimento del efecto a partir de los modelos PKPD. Este tipo de validación del compartimento del efecto para el rocuronio todavía no ha podido realizarse en humanos, probablemente por las dificultades descritas anteriormente. Para poder resolver el hándicap de que las muestras de microdializado deben ser extraídas en “Steady State” y es difícil mantener éste durante mucho tiempo en la realidad clínica con pacientes, podrían sugerirse dos cosas. La primera no depende estrictamente del diseño del estudio pues sería mejorar la técnica de cuantificación del fármaco, de forma que fuera necesaria una menor masa de fármaco para ser detectada con garantías. La segunda consistiría en conseguir esta detección con un menor tiempo entre muestras, lo que conllevaría asociado, un menor tiempo en el que se ha de mantener el “Steady State”. En este sentido, resulta relevante

el que hayamos podido conseguir detectar rocuronio en el músculo humano cada hora, ya que permite ser optimista en cuanto a que tal vez sea posible acortar los intervalos de extracción entre muestras en pacientes.

En los trabajos presentados por Ezzine et al^{164,165}, igual que en nuestro caso, ha sido necesaria la realización previa de estudios “In Vitro” para tratar de ajustar la velocidad de la bomba de microdiálisis y el tiempo de extracción de muestras en función de la capacidad de recuperación del sistema calculada en los experimentos de laboratorio. Estos autores describen un diseño similar aunque con algunas diferencias derivadas de su diseño en perros. La diferencia fundamental se basa en la capacidad de recuperación del sistema a $1 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ (83% en su caso y 40% en el nuestro). Existen algunas posibles explicaciones a esta discrepancia. Las más importantes hacen referencia a las diferencias en el material de microdiálisis empleado (características del catéter, solución de infusión...) y a las diferencias existentes entre perros y humanos (concentración de proteínas plasmáticas, fracción libre del fármaco...) y se describen en la **Tabla 10:**

CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO	EZZINE ET AL¹⁶⁵	FERNÁNDEZ-CANDIL ET AL¹⁸⁶
Año de publicación	2004	2010
Sujetos a estudio	Animales (perros)	Humanos
Número de sujetos a estudio	8	17
Tipo de anestesia (hipnótico empleado)	iv (pentotal)	iv (propofol)
Material de microdiálisis		
Características del Catéter	Membrana tubular de poliéter sulfona, de 10 mm de largo, diámetro exterior de 0.6mm y con “cutoff” de 35 KDa.	Membrana de poliamida, de 30 mm de largo, diámetro exterior de 0.6mm y con “cutoff” de 20 KDa.
Solución de infusión	Ringer bicarbonato modificado	Suero Fisiológico
Tasa de rocuronio unido a proteínas “In Vitro”(%)	42	25 ²⁰⁰
Tasa de recuperación de rocuronio a 1 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ (%)	83	40

Tabla 10. Diferencias principales entre los dos trabajos más representativos de determinación de bromuro de rocuronio a nivel tisular mediante microdiálisis. “cutoff”: tamaño de corte del poro (determina la permeabilidad de la sonda al paso de solutos)
iv = anestesia intravenosa.

Además de todas las diferencias ya mencionadas entre ambos trabajos se ha de destacar que también pueden existir diferencias entre los modelos “In Vitro” e “In Vivo”, es decir, que aunque se reproduzca el sistema en el laboratorio para poder preveer de qué forma se producirá la recuperación del bromuro de rocuronio a través de la sonda de microdiálisis, es posible que existan pequeñas variaciones relacionadas con la colocación del sistema en un organismo vivo. Todavía se desconoce el papel exacto que desempeñan estas variaciones y la magnitud del mismo, pero tal y como reconocen diversos autores parece estar relacionado con los puntos siguientes:

- Cambios en la permeabilidad e integridad de la membrana de microdiálisis que suceden “In Vivo” y que son difíciles de predecir.^{165,167}
- Recuperación de la punción: Como se comenta en el apartado de Material y Métodos de nuestro segundo trabajo, se descartaban las punciones en las que se producía sangrado. Si esto sucedía, se volvía a realizar la punción en un lugar alejado. Asimismo, la inyección de anestésico local era únicamente de 1 mL de lidocaína, para tratar de evitar distorsiones en la anatomía local.
- Paso de rocuronio a la célula: Tiene poca importancia debido a que la distribución de rocuronio está prácticamente limitada al espacio extracelular ya que su permeabilidad celular es muy baja.¹⁶⁴

En cualquier caso, la cuantificación de fármaco en un lugar muy cercano a su biofase es de gran importancia, pues permite establecer un abordaje nuevo en la correcta dosificación farmacológica. En la actualidad, la mayor parte de las dosis recomendadas se basan en las concentraciones plasmáticas y mediante la microdiálisis sería posible hacer esta recomendación en base a la concentración en biofase. Sin embargo, esta peculiar aproximación no siempre es viable, ya que conlleva asociadas una serie de limitaciones, como por ejemplo la ya comentada sobre la extracción de muestras durante el “Steady State” como condición indispensable para establecer una relación adecuada con la información obtenida mediante los modelos PKPD. También se han de remarcar las consideraciones económicas y las derivadas del correcto aprendizaje y manejo de la técnica de la microdiálisis, así como del análisis de las muestras obtenidas. Se trata de una técnica que requiere unas bases para su correcta aplicación (véase apartados 2.4.2. y 4.2.3.) y que depende de los escasos centros a nivel mundial necesarios para cuantificar el rocuronio. Esto repercute, sin duda, en el número de muestras con las que es factible trabajar. Todas las limitaciones mencionadas dificultan la aplicación de la microdiálisis a la realidad del quirófano de una forma rutinaria.

7. CONCLUSIONES

1. Hemos definido la relación entre dosis, concentración y efecto de bloqueo neuromuscular inducido por el bromuro de rocuronio mediante modelos PKPD.
2. Mecanismos exclusivamente farmacocinéticos pueden explicar los mayores requerimientos de bromuro de rocuronio en pacientes tratados de forma crónica con fenitoína ya que la terapia crónica con fenitoína triplica el valor del aclaramiento metabólico de rocuronio. La confirmación de nuestra hipótesis queda respaldada por los resultados obtenidos en ambos trabajos, es decir, mediante modelos PKPD y microdiálisis.
3. La detección de bromuro de rocuronio en el músculo humano es posible gracias a la técnica de la microdiálisis.
4. Las concentraciones musculares de bromuro de rocuronio son similares en ambos grupos de tratamiento a expensas de dosis significativamente superiores en el grupo de pacientes en tratamiento crónico con fenitoína.
5. No hemos podido validar el concepto de biofase o compartimento del efecto para el rocuronio debido a las dificultades que entraña el alcanzar un estado de equilibrio mantenido en los pacientes sometidos a cirugía cerebral.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Naguib M, Flood P, McArdle JJ, Brenner HR: Advances in neurobiology of the neuromuscular junction: implications for the anesthesiologist. *Anesthesiology* 2002; 96: 202-31
2. Harrison TR, Fauci A, Braunwald E, Kasper DL: Harrison. Principios de Medicina Interna., 16th Edition. Edited by McGraw-Hill / Interamericana de España SA. Madrid (España), 2005
3. Hirsch NP: Neuromuscular junction in health and disease. *Br J Anaesth* 2007; 99: 132-8
4. Lora-Tamayo D' Ocon JI: Curso sobre Monitorización del Bloqueo Neuromuscular, 2007, pp Patrocinado por la Sociedad Española de Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del Dolor (SEDAR). Nueva edición on-line en 2009-2010, disponible en: URL; <http://www.cursobloqueoneuromuscular.com>
5. Soriano SG, Martyn JA: Antiepileptic-induced resistance to neuromuscular blockers: mechanisms and clinical significance. *Clin Pharmacokinet* 2004; 43: 71-81
6. Bowman WC: Neuromuscular block. *Br J Pharmacol* 2006; 147 Suppl 1: S277-86
7. Murray MJ, Cowen J, DeBlock H, Erstad B, Gray AW, Jr., Tescher AN, McGee WT, Prielipp RC, Susla G, Jacobi J, Nasraway SA, Jr., Lumb PD: Clinical practice guidelines for sustained neuromuscular blockade in the adult critically ill patient. *Crit Care Med* 2002; 30: 142-56
8. Morgan GE, Mikhail MS: Anestesiología clínica, 4th Edition. Edited by Manual.Moderno. México, D. F. (México), 2007
9. Martyn JA, Fagerlund MJ, Eriksson LI: Basic principles of neuromuscular transmission. *Anaesthesia* 2009; 64 Suppl 1: 1-9
10. Fagerlund MJ, Eriksson LI: Current concepts in neuromuscular transmission. *Br J Anaesth* 2009; 103: 108-14
11. Gehr LC, Sessler CN: Neuromuscular blockade in the intensive care unit. *Semin Respir Crit Care Med* 2001; 22: 175-88
12. Shear TD, Martyn JA: Physiology and biology of neuromuscular transmission in health and disease. *J Crit Care* 2009; 24: 5-10
13. Martyn JA: Basic and clinical pharmacology of the acetylcholine receptor: implications for the use of neuromuscular relaxants. *Keio J Med* 1995; 44: 1-8
14. Álvarez Gómez JA, González Miranda F, Bustamante Bozzo R: Relajantes Musculares en Anestesia y Terapia Intensiva, 2nd Edition. Edited by Arán Ediciones SA. Madrid (España), 2000
15. Griffith HR JG: The use of curare in general anesthesia. *Anesthesiology* 1942; 3: 418
16. Brucke H, Ginzel KH, Klupp H, Pfaffenschiager F, Werner G: [Muscle relaxing effects of bis-choline ester of dicarboxylic acid in narcosis.]. *Wien Klin Wochenschr* 1951; 63: 464-6
17. Thesleff S: An investigation of the muscle-relaxing action of succinylcholine-iodide in man. *Acta Physiol Scand* 1952; 25: 348-67
18. Alvarez Gomez JA, Arino Irujo JJ, Errando Oyonarte CL, Matinez Torrente F, Roige i Sole J, Gilsanz Rodriguez F: [Use of neuromuscular blocking agents and reversal of blockade: guidelines from Sociedad Espanola de Anestesiologia, Reanimacion y Terapeutica del Dolor]. *Rev Esp Anestesiol Reanim* 2009; 56: 616-27

19. Bowman WC: Block by depolarization. *Acta Anaesthesiol Scand* 1994; 38: 529-32
20. Bowman WC, Prior C, Marshall IG: Presynaptic receptors in the neuromuscular junction. *Ann N Y Acad Sci* 1990; 604: 69-81
21. McManus MC: Neuromuscular blockers in surgery and intensive care, Part 2. *Am J Health Syst Pharm* 2001; 58: 2381-95
22. Miller DR: *Anesthesia*, 6th Edition. Edited by Elsevier. Madrid (España), 2005
23. McManus MC: Neuromuscular blockers in surgery and intensive care, Part 1. *Am J Health Syst Pharm* 2001; 58: 2287-99
24. Bowman WC: Non-relaxant properties of neuromuscular blocking drugs. *Br J Anaesth* 1982; 54: 147-60
25. Claudius C, Garvey LH, Viby-Mogensen J: The undesirable effects of neuromuscular blocking drugs. *Anaesthesia* 2009; 64 Suppl 1: 10-21
26. Rosenberg H: Trismus is not trivial. *Anesthesiology* 1987; 67: 453-5
27. Loan PB, Elliott P, Mirakhur RK, Bunting HF, Bhanumurthy S, McMurray TJ: Comparison of the haemodynamic effects of mivacurium and atracurium during fentanyl anaesthesia. *Br J Anaesth* 1995; 74: 330-2
28. Lien CA, Belmont MR, Abalos A, Eppich L, Quessy S, Abou-Donia MM, Savarese JJ: The cardiovascular effects and histamine-releasing properties of 51W89 in patients receiving nitrous oxide/opioid/barbiturate anesthesia. *Anesthesiology* 1995; 82: 1131-8
29. Lynas AG, Clarke RS, Fee JP, Reid JE: Factors that influence cutaneous reactions following administration of thiopentone and atracurium. *Anaesthesia* 1988; 43: 825-8
30. Basta SJ, Ali HH, Savarese JJ, Sunder N, Gionfriddo M, Cloutier G, Lineberry C, Cato AE: Clinical pharmacology of atracurium besylate (BW 33A): a new non-depolarizing muscle relaxant. *Anesth Analg* 1982; 61: 723-9
31. Beemer GH, Dennis WL, Platt PR, Bjorksten AR, Carr AB: Adverse reactions to atracurium and alcuronium. A prospective surveillance study. *Br J Anaesth* 1988; 61: 680-4
32. Eriksson LI: Reduced hypoxic chemosensitivity in partially paralysed man. A new property of muscle relaxants? *Acta Anaesthesiol Scand* 1996; 40: 520-3
33. Jonsson M, Wyon N, Lindahl SG, Fredholm BB, Eriksson LI: Neuromuscular blocking agents block carotid body neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Eur J Pharmacol* 2004; 497: 173-80
34. Sato K, Windisch K, Matko I, Vizi ES: Effects of non-depolarizing neuromuscular blocking agents on norepinephrine release from human atrial tissue obtained during cardiac surgery. *Br J Anaesth* 1999; 82: 904-9
35. Gardier RW, Tsevdos EJ, Jackson DB: The effect of pancuronium and gallamine on muscarinic transmission in the superior cervical ganglion. *J Pharmacol Exp Ther* 1978; 204: 46-53
36. Saxena PR, Bonta IL: Mechanism of selective cardiac vagolytic action of pancuronium bromide. Specific blockade of cardiac muscarinic receptors. *Eur J Pharmacol* 1970; 11: 332-41
37. Durant NN, Marshall IG, Savage DS, Nelson DJ, Sleigh T, Carlyle IC: The neuromuscular and autonomic blocking activities of pancuronium, Org NC 45, and other pancuronium analogues, in the cat. *J Pharm Pharmacol* 1979; 31: 831-6

38. Edwards RP, Miller RD, Roizen MF, Ham J, Way WL, Lake CR, Roderick L: Cardiac responses to imipramine and pancuronium during anesthesia with halothane or enflurane. *Anesthesiology* 1979; 50: 421-5
39. Fisher MM, Munro I: Life-threatening anaphylactoid reactions to muscle relaxants. *Anesth Analg* 1983; 62: 559-64
40. Heath ML: Bronchospasm in an asthmatic patient following pancuronium. *Anaesthesia* 1973; 28: 437-40
41. Mishima S, Yamamura T: Anaphylactoid reaction to pancuronium. *Anesth Analg* 1984; 63: 865-6
42. Hou VY, Hirshman CA, Emala CW: Neuromuscular relaxants as antagonists for M2 and M3 muscarinic receptors. *Anesthesiology* 1998; 88: 744-50
43. Eriksson LI, Lennmarken C, Wyon N, Johnson A: Attenuated ventilatory response to hypoxaemia at vecuronium-induced partial neuromuscular block. *Acta Anaesthesiol Scand* 1992; 36: 710-5
44. Eriksson LI, Sato M, Severinghaus JW: Effect of a vecuronium-induced partial neuromuscular block on hypoxic ventilatory response. *Anesthesiology* 1993; 78: 693-9
45. Epstein RA, Wyte SR, Jackson SH, Sitter S: The electromechanical response to stimulation by the Block-Aid Monitor. *Anesthesiology* 1969; 30: 43-7
46. Donati F, Meistelman C, Plaud B: Vecuronium neuromuscular blockade at the diaphragm, the orbicularis oculi, and adductor pollicis muscles. *Anesthesiology* 1990; 73: 870-5
47. Plaud B, Proost JH, Wierda JM, Barre J, Debaene B, Meistelman C: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of rocuronium at the vocal cords and the adductor pollicis in humans. *Clin Pharmacol Ther* 1995; 58: 185-91
48. Plaud B, Debaene B, Donati F: The corrugator supercilii, not the orbicularis oculi, reflects rocuronium neuromuscular blockade at the laryngeal adductor muscles. *Anesthesiology* 2001; 95: 96-101
49. Torda TA: Monitoring neuromuscular transmission. *Anaesth Intensive Care* 2002; 30: 123-33
50. Fuchs-Buder T, Schreiber JU, Meistelman C: Monitoring neuromuscular block: an update. *Anaesthesia* 2009; 64 Suppl 1: 82-9
51. Arino Irujo JJ, Calbet Mañueco A, De la Calle Elguezabal PA, Velasco Barrio JM, López Timoneda F, Ortiz Gómez JR, Fabregat López J, Palacio Abizanda FJ, Fonet Ruiz I, Pérez Cajaraville J: Neuromuscular blockade monitoring. Part 1. *Rev Esp Anesthesiol Reanim* 2010; 57: 153-160
52. Kopman AF, Klewicka MM, Neuman GG: The relationship between acceleromyographic train-of-four fade and single twitch depression. *Anesthesiology* 2002; 96: 583-7
53. Ali HH, Savarese JJ, Lebowitz PW, Ramsey FM: Twitch, tetanus and train-of-four as indices of recovery from nondepolarizing neuromuscular blockade. *Anesthesiology* 1981; 54: 294-7
54. Viby-Mogensen J, Howardy-Hansen P, Chraemmer-Jorgensen B, Ording H, Engbaek J, Nielsen A: Posttetanic count (PTC): a new method of evaluating an intense nondepolarizing neuromuscular blockade. *Anesthesiology* 1981; 55: 458-61
55. Saitoh Y, Nakazawa K, Makita K, Tanaka H, Toyooka H: Evaluation of residual neuromuscular blockade using modified double burst stimulation. *Acta Anaesthesiol Scand* 1997; 41: 741-5

56. Minto CF, Schnider TW, Gregg KM, Henthorn TK, Shafer SL: Using the time of maximum effect site concentration to combine pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Anesthesiology* 2003; 99: 324-33
57. Ortiz Gómez JR, Fabregat López J, Palacio Abizanda FJ, Fornet Ruiz I, Pérez Cajaraville J, Arino Irujo JJ, Calbet Mañueco A, De la Calle Elguezabal PA, Velasco Barrio JM, López Timoneda F: Neuromuscular blockade monitoring. Part 2. *Rev Esp Anestesiol Reanim* 2010; 57: 161-172
58. Dahaba AA, von Klobucar F, Rehak PH, List WF: The neuromuscular transmission module versus the relaxometer mechanomyograph for neuromuscular block monitoring. *Anesth Analg* 2002; 94: 591-6; table of contents
59. Lam HS, Morgan DL, Lampard DG: Derivation of reliable electromyograms and their relation to tension in mammalian skeletal muscles during synchronous stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1979; 46: 72-80
60. Bolton CF, Parkes A, Thompson TR, Clark MR, Sterne CJ: Recording sound from human skeletal muscle: technical and physiological aspects. *Muscle Nerve* 1989; 12: 126-34
61. Bellemare F, Couture J, Donati F, Plaud B: Temporal relation between acoustic and force responses at the adductor pollicis during nondepolarizing neuromuscular block. *Anesthesiology* 2000; 93: 646-52
62. Muir AW, Houston J, Green KL, Marshall RJ, Bowman WC, Marshall IG: Effects of a new neuromuscular blocking agent (Org 9426) in anaesthetized cats and pigs and in isolated nerve-muscle preparations. *Br J Anaesth* 1989; 63: 400-10
63. Roy JJ, Varin F: Physicochemical properties of neuromuscular blocking agents and their impact on the pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship. *Br J Anaesth* 2004; 93: 241-8
64. Alvarez-Gomez JA, Estelles ME, Fabregat J, Perez F, Brugger AJ: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of rocuronium bromide in adult patients. *Eur J Anaesthesiol Suppl* 1994; 9: 53-6
65. Proost JH, Eriksson LI, Mirakhur RK, Roest G, Wierda JM: Urinary, biliary and faecal excretion of rocuronium in humans. *Br J Anaesth* 2000; 85: 717-23
66. Dragne A, Varin F, Plaud B, Donati F: Rocuronium pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship under stable propofol or isoflurane anesthesia. *Can J Anaesth* 2002; 49: 353-60
67. Wierda JM, Kleef UW, Lambalk LM, Kloppenburg WD, Agoston S: The pharmacodynamics and pharmacokinetics of Org 9426, a new non-depolarizing neuromuscular blocking agent, in patients anaesthetized with nitrous oxide, halothane and fentanyl. *Can J Anaesth* 1991; 38: 430-5
68. Wierda JM, Proost JH, Schiere S, Hommes FD: Pharmacokinetics and pharmacokinetic/dynamic relationship of rocuronium bromide in humans. *Eur J Anaesthesiol Suppl* 1994; 9: 66-74
69. Pino RM: Residual neuromuscular blockade: a persistent clinical problem. *Int Anesthesiol Clin* 2006; 44: 77-90
70. Audibert G, Donati F: The onset of rocuronium, but not of vecuronium or mivacurium, is modified by tourniquet inflation. *Anesth Analg* 1996; 82: 848-53
71. Bartkowski RR, Witkowski TA, Azad S, Lessin J, Marr A: Rocuronium onset of action: a comparison with atracurium and vecuronium. *Anesth Analg* 1993; 77: 574-8
72. Bevan DR: Neuromuscular blocking drugs: onset and intubation. *J Clin Anesth* 1997; 9: 36S-39S

73. Booi LH, Knape HT: The neuromuscular blocking effect of Org 9426. A new intermediately-acting steroidal non-depolarising muscle relaxant in man. *Anaesthesia* 1991; 46: 341-3
74. De Mey JC, Debrock M, Rolly G: Evaluation of the onset and intubation conditions of rocuronium bromide. *Eur J Anaesthesiol Suppl* 1994; 9: 37-40
75. Mirakhur RK: Dose-response and time-course of action of rocuronium bromide. *Eur J Anaesthesiol Suppl* 1995; 11: 23-5
76. Nava-Ocampo AA, Velazquez-Armenta Y, Moyao-Garcia D, Salmeron J: Meta-analysis of the differences in the time to onset of action between rocuronium and vecuronium. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006; 33: 125-30
77. Schultz P, Ibsen M, Ostergaard D, Skovgaard LT: Onset and duration of action of rocuronium--from tracheal intubation, through intense block to complete recovery. *Acta Anaesthesiol Scand* 2001; 45: 612-7
78. Steinberg D: [Rocuronium: onset time or speed of action?]. *Rev Esp Anestesiol Reanim* 2004; 51: 373-7
79. Viby-Mogensen J: Dose-response relationship and time course of action of rocuronium bromide in perspective. *Eur J Anaesthesiol Suppl* 1994; 9: 28-32
80. Wicks TC: The pharmacology of rocuronium bromide (ORG 9426). *Aana J* 1994; 62: 33-8
81. Wierda JM, Meretoja OA, Taivainen T, Proost JH: Pharmacokinetics and pharmacokinetic-dynamic modelling of rocuronium in infants and children. *Br J Anaesth* 1997; 78: 690-5
82. Maddineni VR, McCoy EP, Mirakur RK, McBride RJ: Onset and duration of action and hemodynamic effects of rocuronium bromide under balanced and volatile anesthesia. *Acta Anaesthesiol Belg* 1994; 45: 41-7
83. Kopman AF, Klewicka MM, Kopman DJ, Neuman GG: Molar potency is predictive of the speed of onset of neuromuscular block for agents of intermediate, short, and ultrashort duration. *Anesthesiology* 1999; 90: 425-31
84. Mayer M, Doenicke A, Hofmann A, Peter K: Onset and recovery of rocuronium (Org 9426) and vecuronium under enflurane anaesthesia. *Br J Anaesth* 1992; 69: 511-2
85. Kumar N, Mirakhur RK, Symington MJ, McCarthy GJ: Potency and time course of action of rocuronium during desflurane and isoflurane anaesthesia. *Br J Anaesth* 1996; 77: 488-91
86. McCoy EP, Mirakhur RK, Maddineni VR, Wierda JM, Proost JH: Pharmacokinetics of rocuronium after bolus and continuous infusion during halothane anaesthesia. *Br J Anaesth* 1996; 76: 29-33
87. Leykin Y, Pellis T, Lucca M, Lomangino G, Marzano B, Gullo A: The pharmacodynamic effects of rocuronium when dosed according to real body weight or ideal body weight in morbidly obese patients. *Anesth Analg* 2004; 99: 1086-9, table of contents
88. Mencke T, Soltesz S, Grundmann U, Bauer M, Schlaich N, Larsen R, Fuchs-Buder T: [Time course of neuromuscular blockade after rocuronium. A comparison between women and men]. *Anaesthesist* 2000; 49: 609-12
89. Platt PR, Thackray NM: Phenytoin-induced resistance to vecuronium. *Anaesth Intensive Care* 1993; 21: 185-91
90. Wright PM, McCarthy G, Szenohradszky J, Sharma ML, Caldwell JE: Influence of chronic phenytoin administration on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of vecuronium. *Anesthesiology* 2004; 100: 626-33

91. Gray HS, Slater RM, Pollard BJ: The effect of acutely administered phenytoin on vecuronium-induced neuromuscular blockade. *Anaesthesia* 1989; 44: 379-81
92. Spacek A, Nickl S, Neiger FX, Nigrovic V, Ullrich OW, Weindmayr-Goettel M, Schwall B, Taeger K, Kress HG: Augmentation of the rocuronium-induced neuromuscular block by the acutely administered phenytoin. *Anesthesiology* 1999; 90: 1551-5
93. Haywood PT, Divekar N, Karalliedde LD: Concurrent medication and the neuromuscular junction. *Eur J Anaesthesiol* 1999; 16: 77-91
94. Norris FH, Jr., Colella J, McFarlin D: Effect of Diphenylhydantoin on Neuromuscular Synapse. *Neurology* 1964; 14: 869-76
95. Raines A, Standaert FG: Effects of anticonvulsant drugs on nerve terminals. *Epilepsia* 1969; 10: 211-27
96. Gandhi IC, Jindal MN, Patel VK: Mechanism of neuromuscular blockade with some antiepileptic drugs. *Arzneimittelforschung* 1976; 26: 258-61
97. Pincus JH, Yaari Y, Argov Z: Phenytoin: electrophysiological effects at the neuromuscular junction. *Adv Neurol* 1980; 27: 363-76
98. Yaari Y, Selzer ME, Pincus JH: Phenytoin: mechanisms of its anticonvulsant action. *Ann Neurol* 1986; 20: 171-84
99. Yaari Y, Pincus JH, Argov Z: Depression of synaptic transmission by diphenylhydantoin. *Ann Neurol* 1977; 1: 334-8
100. Gage PW, Lonergan M, Torda TA: Presynaptic and postsynaptic depressant effects of phenytoin sodium at the neuromuscular junction. *Br J Pharmacol* 1980; 69: 119-21
101. Ornstein E, Matteo RS, Schwartz AE, Silverberg PA, Young WL, Diaz J: The effect of phenytoin on the magnitude and duration of neuromuscular block following atracurium or vecuronium. *Anesthesiology* 1987; 67: 191-6
102. Anderson GD: A mechanistic approach to antiepileptic drug interactions. *Ann Pharmacother* 1998; 32: 554-63
103. Patsalos PN, Duncan JS: Antiepileptic drugs. A review of clinically significant drug interactions. *Drug Saf* 1993; 9: 156-84
104. Kim CS, Arnold FJ, Itani MS, Martyn JA: Decreased sensitivity to metocurine during long-term phenytoin therapy may be attributable to protein binding and acetylcholine receptor changes. *Anesthesiology* 1992; 77: 500-6
105. Martyn JA, White DA, Gronert GA, Jaffe RS, Ward JM: Up-and-down regulation of skeletal muscle acetylcholine receptors. Effects on neuromuscular blockers. *Anesthesiology* 1992; 76: 822-43
106. Szenohradszky J, Caldwell JE, Sharma ML, Gruenke LD, Miller RD: Interaction of rocuronium (ORG 9426) and phenytoin in a patient undergoing cadaver renal transplantation: a possible pharmacokinetic mechanism? *Anesthesiology* 1994; 80: 1167-70
107. Abramson FP: Parallel induction of plasma alpha 1-acid glycoprotein concentration and antipyrine clearance by drugs. *Prog Clin Biol Res* 1989; 300: 427-35
108. Wood M: Plasma binding and limitation of drug access to site of action. *Anesthesiology* 1991; 75: 721-3
109. Morita K, Yamaji A: Changes in the concentration of serum alpha 1-acid glycoprotein in epileptic patients. *Eur J Clin Pharmacol* 1994; 46: 137-42
110. Soriano SG, Sullivan LJ, Venkatakrisnan K, Greenblatt DJ, Martyn JA: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of vecuronium in children receiving

phenytoin or carbamazepine for chronic anticonvulsant therapy. *Br J Anaesth* 2001; 86: 223-9

111. Strolin Benedetti M, Ruty B, Baltes E: Induction of endogenous pathways by antiepileptics and clinical implications. *Fundam Clin Pharmacol* 2005; 19: 511-29

112. Jellish WS, Modica PA, Tempelhoff R: Accelerated recovery from pipecuronium in patients treated with chronic anticonvulsant therapy. *J Clin Anesth* 1993; 5: 105-8

113. Ornstein E, Matteo RS, Weinstein JA, Halevy JD, Young WL, Abou-Donia MM: Accelerated recovery from doxacurium-induced neuromuscular blockade in patients receiving chronic anticonvulsant therapy. *J Clin Anesth* 1991; 3: 108-11

114. Roth S, Ebrahim ZY: Resistance to pancuronium in patients receiving carbamazepine. *Anesthesiology* 1987; 66: 691-3

115. Hickey DR, Sangwan S, Bevan JC: Phenytoin-induced resistance to pancuronium. Use of atracurium infusion in management of a neurosurgical patient. *Anaesthesia* 1988; 43: 757-9

116. Liberman BA, Norman P, Hardy BG: Pancuronium-phenytoin interaction: a case of decreased duration of neuromuscular blockade. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1988; 26: 371-4

117. Tempelhoff R, Modica PA, Jellish WS, Spitznagel EL: Resistance to atracurium-induced neuromuscular blockade in patients with intractable seizure disorders treated with anticonvulsants. *Anesth Analg* 1990; 71: 665-9

118. Spacek A, Neiger FX, Spiss CK, Kress HG: Atracurium-induced neuromuscular block is not affected by chronic anticonvulsant therapy with carbamazepine. *Acta Anaesthesiol Scand* 1997; 41: 1308-11

119. Whalley DG, Ebrahim Z: Influence of carbamazepine on the dose-response relationship of vecuronium. *Br J Anaesth* 1994; 72: 125-6

120. Alloul K, Whalley DG, Shutway F, Ebrahim Z, Varin F: Pharmacokinetic origin of carbamazepine-induced resistance to vecuronium neuromuscular blockade in anesthetized patients. *Anesthesiology* 1996; 84: 330-9

121. Driessen JJ, Robertson EN, Booij LH, Vree TB: Accelerated recovery and disposition from rocuronium in an end-stage renal failure patient on chronic anticonvulsant therapy with sodium valproate and primidone. *Br J Anaesth* 1998; 80: 386-8

122. Baraka A, Idriss N: Resistance to rocuronium in an epileptic patient on long-term carbamazepine therapy--a case report. *Middle East J Anesthesiol* 1996; 13: 561-4

123. Spacek A, Neiger FX, Krenn CG, Hoerauf K, Kress HG: Rocuronium-induced neuromuscular block is affected by chronic carbamazepine therapy. *Anesthesiology* 1999; 90: 109-12

124. Hernandez-Palazon J, Tortosa JA, Martinez-Lage JF, Perez-Ayala M: Rocuronium-induced neuromuscular blockade is affected by chronic phenytoin therapy. *J Neurosurg Anesthesiol* 2001; 13: 79-82

125. Spacek A, Neiger FX, Spiss CK, Kress HG: Chronic carbamazepine therapy does not influence mivacurium-induced neuromuscular block. *Br J Anaesth* 1996; 77: 500-2

126. Jellish WS, Thalji Z, Brundidge PK, Tempelhoff R: Recovery from mivacurium-induced neuromuscular blockade is not affected by anticonvulsant therapy. *J Neurosurg Anesthesiol* 1996; 8: 4-8

127. Koenig MH, Edwards LT: Cisatracurium-induced neuromuscular blockade in anticonvulsant treated neurosurgical patients. *J Neurosurg Anesthesiol* 2000; 12: 314-8
128. Richard A, Girard F, Girard DC, Boudreault D, Chouinard P, Moundjian R, Bouthilier A, Ruel M, Couture J, Varin F: Cisatracurium-induced neuromuscular blockade is affected by chronic phenytoin or carbamazepine treatment in neurosurgical patients. *Anesth Analg* 2005; 100: 538-44
129. Schnider TW, Minto CF: Predictors of onset and offset of drug effect. *Eur J Anaesthesiol Suppl* 2001; 23: 26-31
130. Wright PM: Population based pharmacokinetic analysis: why do we need it; what is it; and what has it told us about anaesthetics? *Br J Anaesth* 1998; 80: 488-501
131. Brodie BB: Physicochemical and biochemical aspects of pharmacology. *Jama* 1967; 202: 600-9
132. Paul M, Fisher DM: Pharmacodynamic modeling of muscle relaxants: effect of design issues on results. *Anesthesiology* 2002; 96: 711-7
133. Robertson EN, Driessen JJ, Booij LH: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of rocuronium in patients with and without renal failure. *Eur J Anaesthesiol* 2005; 22: 4-10
134. Shafer SL, Varvel JR: Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and rational opioid selection. *Anesthesiology* 1991; 74: 53-63
135. Shanks CA: The train-of-four count and kinetic-dynamic modelling. *J Clin Anesth* 1997; 9: 40S-44S
136. Sheiner LB, Stanski DR, Vozeh S, Miller RD, Ham J: Simultaneous modeling of pharmacokinetics and pharmacodynamics: application to d-tubocurarine. *Clin Pharmacol Ther* 1979; 25: 358-71
137. Sparr HJ, Wierda JM, Proost JH, Keller C, Khuenl-Brady KS: Pharmacodynamics and pharmacokinetics of rocuronium in intensive care patients. *Br J Anaesth* 1997; 78: 267-73
138. van Miert MM, Eastwood NB, Boyd AH, Parker CJ, Hunter JM: The pharmacokinetics and pharmacodynamics of rocuronium in patients with hepatic cirrhosis. *Br J Clin Pharmacol* 1997; 44: 139-44
139. Fabregas N, Rapado J, Gambus PL, Valero R, Carrero E, Salvador L, Nalda-Felipe MA, Troconiz IF: Modeling of the sedative and airway obstruction effects of propofol in patients with Parkinson disease undergoing stereotactic surgery. *Anesthesiology* 2002; 97: 1378-86
140. Hill AV: The possible effects of the aggregation of the molecules of hemoglobin on its dissociation curves. *J Physiol* 1910; 40: iv-vii
141. Minto CF, Schnider TW, Egan TD, Youngs E, Lemmens HJ, Gambus PL, Billard V, Hoke JF, Moore KH, Hermann DJ, Muir KT, Mandema JW, Shafer SL: Influence of age and gender on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of remifentanyl. I. Model development. *Anesthesiology* 1997; 86: 10-23
142. Lotsch J: Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of opioids. *J Pain Symptom Manage* 2005; 29: S90-103
143. Standing JF, Hammer GB, Sam WJ, Drover DR: Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the hypotensive effect of remifentanyl in infants undergoing cranioplasty. *Paediatr Anaesth* 2010; 20: 7-18
144. Schnider TW, Minto CF, Gambus PL, Andresen C, Goodale DB, Shafer SL, Youngs EJ: The influence of method of administration and covariates on the pharmacokinetics of propofol in adult volunteers. *Anesthesiology* 1998; 88: 1170-82

145. Schnider TW, Minto CF, Shafer SL, Gambus PL, Andresen C, Goodale DB, Youngs EJ: The influence of age on propofol pharmacodynamics. *Anesthesiology* 1999; 90: 1502-16
146. Chow B, Bowden MI, Ho E, Weatherley BC, Bion JF: Pharmacokinetics and dynamics of atracurium infusions after paediatric orthotopic liver transplantation. *Br J Anaesth* 2000; 85: 850-5
147. Kuipers JA, Boer F, Olofsen E, Bovill JG, Burm AG: Recirculatory pharmacokinetics and pharmacodynamics of rocuronium in patients: the influence of cardiac output. *Anesthesiology* 2001; 94: 47-55
148. Tran TV, Fiset P, Varin F: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cisatracurium after a short infusion in patients under propofol anesthesia. *Anesth Analg* 1998; 87: 1158-63
149. Beal SL, Boekman AJ, Sheiner LB: NONMEM users guide. Part VI. PREDPP guide., 1998, pp Project Group, University of California at San Francisco, San Francisco
150. Moore ES, Faix RG, Banagale RC, Grasela TH: The population pharmacokinetics of theophylline in neonates and young infants. *J Pharmacokinetic Biopharm* 1989; 17: 47-66
151. Fluhler H, Huber H, Widmer E, Brechbuhler S: Experiences in the application of NONMEM to pharmacokinetic data analysis. *Drug Metab Rev* 1984; 15: 317-39
152. Ungerstedt U, Pycock C: Functional correlates of dopamine neurotransmission. *Bull Schweiz Akad Med Wiss* 1974; 30: 44-55
153. Lonroth P, Jansson PA, Smith U: A microdialysis method allowing characterization of intercellular water space in humans. *Am J Physiol* 1987; 253: E228-31
154. Hansen DK, Davies MI, Lunte SM, Lunte CE: Pharmacokinetic and metabolism studies using microdialysis sampling. *J Pharm Sci* 1999; 88: 14-27
155. Araki H, Ogake N, Minami S, Watanabe Y, Narita H, Tamai I, Tsuji A: Application of muscle microdialysis to evaluate the concentrations of the fluoroquinolones pазufloxacin and ofloxacin in the tissue interstitial fluids of rats. *J Pharm Pharmacol* 1997; 49: 1141-4
156. Sasongko L, Ramzan I, Williams KM, McLachlan AJ: Muscle distribution of the neuromuscular blocker gallamine using microdialysis. *J Pharm Sci* 2002; 91: 769-75
157. Tegeder I, Schmidtko A, Brautigam L, Kirschbaum A, Geisslinger G, Lotsch J: Tissue distribution of imipenem in critically ill patients. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 71: 325-33
158. Globus MY, Busto R, Dietrich WD, Martinez E, Valdes I, Ginsberg MD: Effect of ischemia on the in vivo release of striatal dopamine, glutamate, and gamma-aminobutyric acid studied by intracerebral microdialysis. *J Neurochem* 1988; 51: 1455-64
159. Kendrick KM, Leng G: Haemorrhage-induced release of noradrenaline, 5-hydroxytryptamine and uric acid in the supraoptic nucleus of the rat, measured by microdialysis. *Brain Res* 1988; 440: 402-6
160. Enblad P, Valtysson J, Andersson J, Lilja A, Valind S, Antoni G, Langstrom B, Hillered L, Persson L: Simultaneous intracerebral microdialysis and positron emission tomography in the detection of ischemia in patients with subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996; 16: 637-44

161. Hammarlund-Udenaes M: The use of microdialysis in CNS drug delivery studies. Pharmacokinetic perspectives and results with analgesics and antiepileptics. *Adv Drug Deliv Rev* 2000; 45: 283-94
162. Hammarlund-Udenaes M, Paalzow LK, de Lange EC: Drug equilibration across the blood-brain barrier--pharmacokinetic considerations based on the microdialysis method. *Pharm Res* 1997; 14: 128-34
163. Muller M: Science, medicine, and the future: Microdialysis. *Bmj* 2002; 324: 588-91
164. Ezzine S, Varin F: Interstitial muscle concentrations of rocuronium under steady-state conditions in anaesthetized dogs: actual versus predicted values. *Br J Anaesth* 2005; 94: 49-56
165. Ezzine S, Yamaguchi N, Varin F: Determination of interstitial rocuronium concentrations in the muscle tissue of anesthetized dogs by microdialysis. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2004; 49: 121-9
166. Chaurasia CS, Muller M, Bashaw ED, Benfeldt E, Bolinder J, Bullock R, Bungay PM, DeLange EC, Derendorf H, Elmquist WF, Hammarlund-Udenaes M, Joukhadar C, Kellogg DL, Jr., Lunte CE, Nordstrom CH, Rollema H, Sawchuk RJ, Cheung BW, Shah VP, Stahle L, Ungerstedt U, Welty DF, Yeo H: AAPS-FDA workshop white paper: microdialysis principles, application and regulatory perspectives. *Pharm Res* 2007; 24: 1014-25
167. de Lange EC, de Boer AG, Breimer DD: Methodological issues in microdialysis sampling for pharmacokinetic studies. *Adv Drug Deliv Rev* 2000; 45: 125-48
168. Schmidt S, Banks R, Kumar V, Rand KH, Derendorf H: Clinical microdialysis in skin and soft tissues: an update. *J Clin Pharmacol* 2008; 48: 351-64
169. Ungerstedt U: Microdialysis--principles and applications for studies in animals and man. *J Intern Med* 1991; 230: 365-73
170. Olson RJ, Justice JB, Jr.: Quantitative microdialysis under transient conditions. *Anal Chem* 1993; 65: 1017-22
171. Bouw MR, Hammarlund-Udenaes M: Methodological aspects of the use of a calibrator in in vivo microdialysis--further development of the retrodialysis method. *Pharm Res* 1998; 15: 1673-9
172. Wang Y, Wong SL, Sawchuk RJ: Microdialysis calibration using retrodialysis and zero-net flux: application to a study of the distribution of zidovudine to rabbit cerebrospinal fluid and thalamus. *Pharm Res* 1993; 10: 1411-9
173. Hsiao JK, Ball BA, Morrison PF, Mefford IN, Bungay PM: Effects of different semipermeable membranes on in vitro and in vivo performance of microdialysis probes. *J Neurochem* 1990; 54: 1449-52
174. Lotsch J, Schmidt R, Vetter G, Schmidt H, Skarke C, Niederberger E, Geisslinger G, Tegeder I: The influence of inhibition of probenecid sensitive transporters on the central nervous system (CNS) uptake and the antinociceptive activity of morphine-6-glucuronide in rats. *Neurosci Lett* 2002; 329: 145-8
175. Lotsch J, Skarke C, Schmidt H, Liefhold J, Geisslinger G: Pharmacokinetic modeling to predict morphine and morphine-6-glucuronide plasma concentrations in healthy young volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72: 151-62
176. Minto CF, Schnider TW, Shafer SL: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of remifentanyl. II. Model application. *Anesthesiology* 1997; 86: 24-33
177. Viby-Mogensen J, Ostergaard D, Donati F, Fisher D, Hunter J, Kampmann JP, Kopman A, Proost JH, Rasmussen SN, Skovgaard LT, Varin F, Wright

PM: Pharmacokinetic studies of neuromuscular blocking agents: good clinical research practice (GCRP). *Acta Anaesthesiol Scand* 2000; 44: 1169-90

178. Fuchs-Buder T, Claudius C, Skovgaard LT, Eriksson LI, Mirakhur RK, Viby-Mogensen J: Good clinical research practice in pharmacodynamic studies of neuromuscular blocking agents II: the Stockholm revision. *Acta Anaesthesiol Scand* 2007; 51: 789-808

179. Fernandez-Candil J, Gambus PL, Troconiz IF, Valero R, Carrero E, Bueno L, Fabregas N: Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the influence of chronic phenytoin therapy on the rocuronium bromide response in patients undergoing brain surgery. *Eur J Clin Pharmacol* 2008; 64: 795-806

180. Kleef UW, Proost JH, Roggeveld J, Wierda JM: Determination of rocuronium and its putative metabolites in body fluids and tissue homogenates. *J Chromatogr* 1993; 621: 65-76

181. Magorian T, Wood P, Caldwell J, Fisher D, Segredo V, Szenohradzky J, Sharma M, Gruenke L, Miller R: The pharmacokinetics and neuromuscular effects of rocuronium bromide in patients with liver disease. *Anesth Analg* 1995; 80: 754-9

182. Szenohradzky J, Fisher DM, Segredo V, Caldwell JE, Bragg P, Sharma ML, Gruenke LD, Miller RD: Pharmacokinetics of rocuronium bromide (ORG 9426) in patients with normal renal function or patients undergoing cadaver renal transplantation. *Anesthesiology* 1992; 77: 899-904

183. Heier T, Kitts JB, Caldwell J: Intraoperative thermoregulatory vasoconstriction decreases adductor pollicis muscle temperature: Adductor pollicis muscle cooling decreases twitch tension. *Anesthesiology* 1988; 69: A 471

184. Minto CF, Schnider TW: PKPD tools for EXCEL, 2007, pp Available at www.pkpdtools.com

185. Elmquist WF, Sawchuk RJ: Application of microdialysis in pharmacokinetic studies. *Pharm Res* 1997; 14: 267-88

186. Fernandez-Candil J, Gambus PL, Troconiz IF, Valero R, Carrero E, Fabregas N: Feasibility of microdialysis to determine interstitial rocuronium concentration in the muscle tissue of anesthetized neurosurgical patients. *J Neurosurg Anesthesiol* 2010; 22: 163-9

187. Jonsson EN, Karlsson MO: Xpose--an S-PLUS based population pharmacokinetic/pharmacodynamic model building aid for NONMEM. *Comput Methods Programs Biomed* 1999; 58: 51-64

188. Mandema JW, Verotta D, Sheiner LB: Building population pharmacokinetic--pharmacodynamic models. I. Models for covariate effects. *J Pharmacokinet Biopharm* 1992; 20: 511-28

189. Holford N: The visual predictive check--superiority to standard diagnostic (Rorschach) plots., 2005, pp In: 14th Meeting of the Population Approach Group in Europe. Available at: <http://www.page-meeting.org/default.asp?abstract=738>

190. Cooper RA, Mirakhur RK, Wierda JM, Maddineni VR: Pharmacokinetics of rocuronium bromide in patients with and without renal failure. *Eur J Anaesthesiol Suppl* 1995; 11: 43-4

191. Khuenl-Brady KS, Sparr H: Clinical pharmacokinetics of rocuronium bromide. *Clin Pharmacokinet* 1996; 31: 174-83

192. Khuenl-Brady KS, Sparr H, Puhlinger F, Agoston S: Rocuronium bromide in the ICU: dose finding and pharmacokinetics. *Eur J Anaesthesiol Suppl* 1995; 11: 79-80

193. Ihmsen H, Viethen V, Forst J, Schwilden H, Schmitt HJ, Muenster T: Pharmacodynamic modelling of rocuronium in adolescents with Duchenne muscular dystrophy. *Eur J Anaesthesiol* 2009; 26: 105-10
194. O'Kelly B, Fiset P, Meistelman C, Ecoffey C: Pharmacokinetics of rocuronium bromide in paediatric patients. *Eur J Anaesthesiol Suppl* 1994; 9: 57-8
195. Matteo RS, Ornstein E, Schwartz AE, Ostapkovich N, Stone JG: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of rocuronium (Org 9426) in elderly surgical patients. *Anesth Analg* 1993; 77: 1193-7
196. Bergeron L, Bevan DR, Berrill A, Kahwaji R, Varin F: Concentration-effect relationship of cisatracurium at three different dose levels in the anesthetized patient. *Anesthesiology* 2001; 95: 314-23
197. Chen C, Yamaguchi N, Varin F: Dose-dependency of pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters after intravenous bolus doses of cisatracurium. *Br J Anaesth* 2008; 101: 788-97
198. Hans P, Brichant JF, Pieron F, Pieyns P, Born JD, Lamy M: Elevated plasma alpha 1-acid glycoprotein levels: lack of connection to resistance to vecuronium blockade induced by anticonvulsant therapy. *J Neurosurg Anesthesiol* 1997; 9: 3-7
199. Barohn RJ, Jackson CE, Rogers SJ, Ridings LW, McVey AL: Prolonged paralysis due to nondepolarizing neuromuscular blocking agents and corticosteroids. *Muscle Nerve* 1994; 17: 647-54
200. Proost JH, Roggeveld J, Wierda JM, Meijer DK: Relationship between chemical structure and physicochemical properties of series of bulky organic cations and their hepatic uptake and biliary excretion rates. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 282: 715-26

**9. OTROS MÉRITOS CIENTÍFICOS DERIVADOS DE ESTA
LÍNEA DE INVESTIGACIÓN**

9.1. Becas FIS concedidas

- Beca FIS aprobada (2002-2005) en el ámbito del estudio de la PK y la PD de los BNM.

Título del proyecto: “Farmacocinética y farmacodinámica del bromuro de rocuronio en los pacientes tratados de forma crónica con difenilhidantoína”.

(FIS nº PI 020582)

Investigador principal: Dra. N. Fàbregas Julià.

- Nueva Beca FIS aprobada (2006) en el ámbito del estudio de la PK y la PD de los BNM.

Título del proyecto: “Farmacocinética y farmacodinámica del mivacurio en los pacientes tratados de forma crónica con anticomiciales”.

(Nº de referencia: EC07/90255)

Investigador principal: Dra. N. Fàbregas Julià.

9.2. Comunicaciones a congresos

CONGRESOS NACIONALES

- **Fernández Candil J**, Gambús P, Valero R, Carrero E, Salvador L, Fàbregas N. *Farmacocinética del rocuronio en pacientes sometidos a intervenciones neuroquirúrgicas. Influencia de la administración crónica de fenitoína. Comunicación Oral.* XXVII Congreso de la Sociedad Española de Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del Dolor (SEDAR). Palma de Mallorca, 1-4 Junio 2005. Rev Esp Anesthesiol Reanim 2005 52:351-352.

CONGRESOS INTERNACIONALES

- Gambus PL, **Fernández-Candil J**, Valero R, Trocóniz I, Fàbregas N. *Pharmacokinetics (PK) and pharmacodynamics (PD) of rocuronium bromide in patients undergoing brain surgery: influence of chronic phenitoin therapy. Póster.* 33rd Annual Meeting of the Society of Neurosurgical Anesthesia and Critical Care (SNACC). Atlanta, Georgia (EUA) October 20-22, 2005. J Neurosug Anesthesiol; Vol 17, N 4, October 2005.
- Gambus PL, **Fernández-Candil J**, Valero R, Trocóniz I, Fàbregas N. *Pharmacokinetics (PK) and pharmacodynamics (PD) of rocuronium bromide in patients undergoing brain surgery: influence of chronic phenitoin therapy. Póster.* Annual Meeting of the American Society of Anesthesiologists (ASA). Atlanta, Georgia (EUA) October 22-26, 2005. Anesthesiology 2005; 103: A767.
- **Fernández-Candil J**, Gambús P, Troconiz IF, Carrero E, Valero R, Fabregas N. *Influence of chronic phenitoin therapy on muscle concentrations of rocuronium. Póster.* European Society of Anaesthesiology (ESA). Madrid (España) 3-6 Junio 2006. European Journal of Anaesthesiology (EJA). Vol 23 Supplement 37 2006 (107).

9.3. Premios

- **Premio a la mejor comunicación oral** en el XXVII Congreso de la Sociedad Española de Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del Dolor (SEDAR). Palma de Mallorca, 1-4 Junio 2005:

Fernández Candil J, Gambús P, Valero R, Carrero E, Salvador L, Fábregas N. “Farmacocinética del rocuronio en pacientes sometidos a intervenciones neuroquirúrgicas. Influencia de la administración crónica de fenitoína.”

- **XLII Premi Raventós 2009** otorgado por la Acadèmia de Ciències Mèdiques i de la Salut de Catalunya i de Balears i la Societat Catalana d’Anestesiologia, Reanimació i Terapèutica del Dolor. Girona, 7 Noviembre 2009:

Fernández-Candil J, Gambús PL, Trocóniz IF, Valero R, Carrero E, Bueno L, Fábregas N. “Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the influence of chronic phenytoin therapy on rocuronium bromide response in patients undergoing brain surgery.”