

Université de Montréal

**Pharmacométrie de la ropivacaïne suivant l'anesthésie
locorégionale chez les patients orthopédiques :
Caractérisation de l'intensité et de la durée du bloc
sensitif**

par
François Gaudreault

Faculté de pharmacie

Thèse présentée à la Faculté de pharmacie
en vue de l'obtention du grade de *Philosophiae Doctor*
en Sciences pharmaceutiques

Avril 2013

© François Gaudreault, 2013

Résumé

Introduction & Objectifs : Pour assurer l'analgésie postopératoire, l'anesthésiste dispose, en plus des différentes classes de médicaments administrés par voie orale ou intraveineuse, de diverses techniques pour bloquer l'influx nerveux douloureux en administrant les anesthésiques locaux (AL) de manière centrale ou périphérique. La ropivacaïne (ROP), un AL à longue durée d'action, est un médicament de première intention partout dans le monde, en raison de sa grande efficacité et de son faible risque de toxicité. Contrairement à certains pays, la ROP n'est toujours pas indiquée au Canada pour la rachianesthésie (bloc central) en raison d'un manque de données probantes. Jusqu'à présent, les efforts de recherche ont essentiellement porté sur la sécurité ainsi que sur la durée d'action du médicament lorsqu'administré par voie spinale. De plus, les doses optimales de ROP pour l'anesthésie régionale périphérique ne sont pas encore précisément connues. La posologie devrait être adaptée au site d'administration ainsi qu'à l'intensité et la durée du stimulus produit par la chirurgie. Ultiment, cela permettrait aux cliniciens d'identifier le régime optimal en fonction des facteurs démographiques qui pourraient affecter la *pharmacocinétique* (PK) et la *pharmacodynamie* (PD) de l'AL (objectif global de ces travaux).

Validation de la Méthode Analytique **Manuscrit 1** : Une méthode analytique spécifique et sensible permettant de déterminer les concentrations plasmatiques de ROP a d'abord été optimisée et validée.

Validation du Biomarqueur **Manuscrit 2** : Nous avons ensuite mis au point et évalué la fiabilité d'une méthode quantitative basée sur la mesure du seuil de perception sensorielle (CPT) chez le volontaire sain. Ce test nécessite l'application d'un courant électrique transcutané qui augmente graduellement et qui, selon la fréquence choisie, est capable de stimuler spécifiquement les fibres nerveuses impliquées dans le cheminement de l'influx nerveux douloureux. Les résultats obtenus chez les volontaires sains indiquent que la mesure CPT est fiable, reproductible et permet de suivre l'évolution temporelle du bloc sensitif.

Études cliniques Manuscrit 3 : Nous avons ensuite caractérisé, pendant plus de 72 h, l'absorption systémique de la ROP lorsqu'administrée pour un bloc du nerf fémoral chez 19 patients subissant une chirurgie du genou. Le modèle PK populationnel utilisé pour analyser nos résultats comporte une absorption biphasique durant laquelle une fraction de la dose administrée pénètre rapidement (temps d'absorption moyen : 27 min, IC % 19 – 38 min) dans le flux sanguin systémique pendant que l'autre partie, en provenance du site de dépôt, est redistribuée beaucoup plus lentement (demi-vie ($T_{1/2}$) : 2.6 h, IC % 1.6 – 4.3 h) vers la circulation systémique. Une relation statistiquement significative entre l'âge de nos patients et la redistribution de l'AL suggère que la perméabilité tissulaire est augmentée avec l'âge. **Manuscrit 4** : Une analyse PK-PD du comportement sensitif du bloc fémoral (CPT) a été effectuée. Le modèle développé a estimé à 20.2 ± 10.1 mg la quantité de ROP nécessaire au site d'action pour produire 90 % de l'effet maximal (AE_{90}). À 2 X la AE_{90} , le modèle prédit un début d'action de 23.4 ± 12.5 min et une durée de 22.9 ± 5.3 h. Il s'agit de la première étude ayant caractérisé le comportement sensitif d'un bloc nerveux périphérique. **Manuscrit 5** : La troisième et dernière étude clinique a été conduite chez les patients qui devaient subir une chirurgie du genou sous rachianesthésie. Tout comme pour le bloc du nerf fémoral, le modèle PK le plus approprié pour nos données suggère que l'absorption systémique de la ROP à partir du liquide céphalo-rachidien est biphasique; c.à.d. une phase initiale ($T_{1/2}$: 49 min, IC %: 24 – 77 min) suivie (délai: 18 ± 2 min) d'une phase légèrement plus lente ($T_{1/2}$: 66 min, IC %: 36 – 97 min). L'effet maximal a été observé beaucoup plus rapidement, soit aux environs de 12.6 ± 4.9 min, avant de revenir aux valeurs de base 210 ± 55 min suivant l'administration de l'agent. Ces données ont permis d'estimer une AE_{50} de 7.3 ± 2.3 mg pour l'administration spinale.

Conclusion : En somme, ces modèles peuvent être utilisés pour prédire l'évolution temporelle du bloc sensitif de l'anesthésie rachidienne et périphérique (fémorale), et par conséquent, optimiser l'utilisation clinique de la ROP en fonction des besoins des cliniciens, notamment en ce qui a trait à l'âge du patient.

Mots-clés : ropivacaine; pharmacocinétique; pharmacodynamie; âge; bloc nerveux périphérique; anesthésie spinale; patients orthopédiques.

Abstract

Background & Objectives: To provide postoperative analgesia, the anesthesiologist has at his disposal a panel of different medications and also regional techniques of neural blockade. Loco-regional analgesia (central or peripheral) blocks conduction of painful influx to the central nervous system by the use of local anesthetics (LA). Among these drugs, ropivacaine (ROP), has an enormous potential given its long-acting efficacy and low incidence of toxicity. Currently, ROP is not licensed for use in spinal anesthesia (central block) in all countries due to a lack of data from controlled clinical trials. So far, research efforts on this topic have mainly focused on safety and dose-finding issues. In addition, the most appropriate dose for a peripheral nerve block has never been estimated empirically. Dosing recommendation for LAs should be site-specific and adapted to the intensity of the stimuli produced by a surgery and to the duration of analgesia required. Ultimately, these should guide clinicians in identifying the most appropriate block for the individual patients by taking into account demographic factors that may affect the pharmacokinetics (PK) and pharmacodynamics (PD) of LA overall objective of the current research)

Analytical Method Validation **Manuscript 1:** First, a specific and sensitive assay has been developed and validated for the determination of ROP in human plasma.

Biomarker Validation **Manuscript 2:** Second, the reliability of a neurostimulator measuring current perception threshold (CPT) was assessed in healthy volunteers. The device uses a constant transcutaneous electrical sine wave stimulus at different frequencies specific to pain-conducting fibers. Our results suggest that CPT are reliable and can be applied to characterize, in a quantitative manner, the sensory onset of a peripheral nerve block in a clinical setting.

Clinical Studies **Manuscript 3:** The systemic absorption of ROP after a femoral nerve block in orthopedic patients was then characterized using extended rich PK-sampling, i.e. up to 4 days post-dosing. Our model used for data analysis confirms that, in a similar manner to neuraxial sites of LAs injection, the systemic absorption of ROP from the femoral space is biphasic, i.e. a rapid initial phase (mean absorption time of 25 min, %

CI: 19 – 38 min) followed by a much slower phase (half-life ($T_{1/2}$) of 3.9 h, % CI: 2.9 – 6.0 h). A significant age-related increase in the permeability of the LA was also observed in our elderly patients ($n = 19$, age = 62.6 ± 7.1 yr).

Manuscript 4: A population PK-PD analysis of the sensory anesthesia (CPT) of ROP using our PK model was also performed. The effect-site amount producing 90% of the maximum possible effect (AE_{90}) was estimated as 20.2 ± 10.1 mg. At $2 \times AE_{90}$, the sigmoid E_{max} model predicted an onset time of 23.4 ± 12.5 min and a duration of 22.9 ± 5.3 h. To the best of our knowledge, this is the first PK-PD model developed for a peripheral nerve block.

Manuscript 5: In the third and last study, a similar approach was used to characterise the PK-PD relationship of intrathecally administered ROP in patients undergoing minor lower limb surgery. The biphasic release of the agent from the intrathecal space was modeled using a rapid initial absorption phase ($T_{1/2}$ of 49 min, % CI: 24 – 77 min) followed (lag-time of $\sim 18 \pm 2$ min) by a slightly slower input rate ($T_{1/2}$ of 66 min, % CI: 36 – 97 min). ROP maximal response was observed within 12.6 ± 4.9 min of dosing, with a subsequent return to baseline 210 ± 55 min after the administration of the LA. The effect-site amount producing 50 % of the E_{max} (AE_{50}) was estimated at 7.3 ± 2.3 mg.

Conclusion: Altogether, the proposed models can be used to predict the time-course of sensory blockade after a femoral nerve block and spinal anesthesia using ROP and to optimize dosing regimen according to clinical needs with regard to important cofactors such as age.

Keywords : Ropivacaine; pharmacokinetics; pharmacodynamics; age; peripheral nerve block; spinal anesthesia; orthopedic patients.

TABLE DES MATIÈRES

<i>Résumé</i>	<i>i</i>
<i>Abstract</i>	<i>iii</i>
<i>Liste des tableaux</i>	<i>vii</i>
<i>Liste des figures</i>	<i>viii</i>
<i>Abréviations</i>	<i>x</i>
<i>Remerciements</i>	<i>xiii</i>
<i>Avant-propos</i>	<i>xiv</i>
SECTION I: INTRODUCTION	1
CHAPITRE 1: Aspects fondamentaux et cliniques de l'anesthésie locorégionale	2
1.1 Neurophysiologie et action anesthésiante locale.....	7
1.2 Propriétés pharmacocinétiques des anesthésiques locaux.....	15
1.3 Pharmacologie clinique des anesthésiques locaux	27
1.4 Toxicité des anesthésiques locaux.....	33
CHAPITRE 2: Modélisation pharmacocinétique-pharmacodynamique.....	38
2.1 L'approche classique.....	39
2.2 L'approche populationnelle	46
CHAPITRE 3: Objectifs et hypothèse de recherche	53
3.1 Objectifs généraux et hypothèse de recherche	53
3.2 Objectifs spécifiques	53
SECTION II: TRAVAUX DE RECHERCHE	58
CHAPITRE 4: High performance liquid chromatography using UV detection for the simultaneous quantification of	59

CHAPITRE 5: Reliability of the current perception threshold in volunteers and its applicability in a clinical setting.....	75
CHAPITRE 6: A population pharmacokinetic model for the complex systemic absorption of ropivacaine after a femoral nerve block in patients undergoing knee surgery.....	92
CHAPITRE 7: Modeling the anesthetic effect of ropivacaine after a femoral nerve block in orthopedic patients: A population PK-PD analysis.....	115
CHAPITRE 8: Population PK-PD modeling of intrathecal ropivacaine in patients undergoing lower limb surgery	147
SECTION III: CONCLUSION	177
Discussion générale.....	178
Conclusion et perspectives	188
BIBLIOGRAPHIE	i
ANNEXES	xv

Liste des tableaux

Tableau I Classification et caractéristiques physiologiques des fibres nerveuses	8
Tableau II Propriétés physicochimiques des principaux anesthésiques locaux.....	16
Tableau III Principaux paramètres pharmacocinétiques des anesthésiques locaux	27
Tableau IV Propriétés pharmacologiques de certains anesthésiques locaux	28

• Les tableaux présentés dans les différents articles ne sont pas présentés dans cette liste. Seuls les tableaux retrouvés dans l'introduction de la thèse sont énumérés.

Liste des figures

Figure 1 Rachianesthésie et anesthésie péridurale	3
Figure 2 Bloc nerveux périphérique ou plexique	4
Figure 3 Anesthésie par infiltration sous-cutanée.	4
Figure 4 Expression sensitive du bloc après rachianesthésie et anesthésie péridurale.....	5
Figure 5 Chronologie de l'introduction sur le marché des anesthésiques locaux	6
Figure 6 Cheminement de l'influx nerveux.....	7
Figure 7 Fibres nerveuses périphériques	9
Figure 8 Genèse du potentiel d'action et perméabilité aux courants ioniques.....	11
Figure 9 Bloc nerveux tonique (B_T) et fréquence-dépendant (B_F)	12
Figure 10 Conduction décrementielle	13
Figure 11 Bloc différentiel	14
Figure 12 Configuration chimique des anesthésiques locaux	15
Figure 13 Structure chimique des isomères lévogyres et dextrogyres de la bupivacaïne	16
Figure 14 Modèle conceptuel décrivant le devenir local d'un anesthésique.....	17
Figure 15 Équilibre acido-basique des anesthésiques locaux.....	19
Figure 16 Modèle conceptuel de l'absorption biphasique des anesthésiques locaux.....	21
Figure 17 Niveaux plasmatiques post-chirurgical de protéines	22
Figure 18 Métabolisme de la ropivacaïne	24
Figure 19 Concentrations plasmatiques totales et libres de ropivacaïne.....	26
Figure 20 Le neuromètre	30
Figure 21 Corrélation entre la puissance et la solubilité lipidique	32
Figure 22 Potentiel de toxicité systémique d'un anesthésique local	35

Figure 23 Modèle pharmacocinétique à deux compartiments.....	40
Figure 24 Courbe dose-réponse.....	42
Figure 25 Relation dose, concentration, effet d'un médicament.....	43
Figure 26 Illustration du délai d'action pharmacologique	44
Figure 27 Estimation des paramètres	45
Figure 28 Illustrations graphiques de la variabilité inter- et intra-individuelle.....	47
Figure 29 Maximum de vraisemblance	49
Figure 30 Résultats obtenus après un bootstrap	51
Figure 31 « Visual predictive check ».....	52
Figure 32 Fraction cummulée absorbée	181
Figure 33 Relation entre l'absorption et l'âge.....	183

• Les figures présentées dans les différents articles ne sont pas présentées dans cette liste. Seules les figures retrouvées dans l'introduction de la thèse sont énumérées.

Abréviations

Symbole	Unité	Définition
BW	Kg	Poids corporel
C _p	ng/mL	Concentration plasmatique
Cl	L/min	Clairance systémique
Cl _H	L/min	Clairance hépatique
Cl _{int}	L/min	Clairance intrinsèque
C _{max}	ng/mL	Concentration plasmatique maximale
C _{Totale}	ng/mL	Concentration plasmatique totale
CYP450	---	Cytochrome P450
D (Drug)	---	Coefficient de diffusion et/ou médicament
DO	mg	Dose administrée
DR	---	Complexe médicament récepteur
ε _{ij}	---	Erreur résiduelle pour un individu <i>i</i> au temps <i>j</i>
E	---	Épaisseur de la membrane
η _i	---	Variabilité interindividuelle pour un paramètre donnée d'un individu <i>i</i> (ETA)
EC ₅₀	ng/mL	Concentration nécessaire pour produire 50% de
E _{max}		Effet maximal
E _h	---	Coefficient d'extraction hépatique
E _{max}	---	Effet maximal
F	---	Biodisponibilité
FO	---	Méthode de premier ordre (First-Order)
FOCE	---	Méthode de premier ordre avec estimés conditionnels (First Order Conditional Estimation)
FOCE-I	---	Méthode de premier ordre avec estimés conditionnels et interaction (FOCE-I)
f _{libre}	---	Fraction libre

$f_{liée}$	---	Fraction liée aux protéines plasmatiques
k_a	---	Constante de vitesse d'absorption
k_D	---	Constante de vitesse de dissociation
k_{el}	---	Constante de vitesse d'élimination
k_{10}	---	Constante de vitesse d'élimination depuis de compartiment central
k_{12}	min^{-1}	Constante de transfert du compartiment central vers le compartiment périphérique
k_{21}	min^{-1}	Constante de transfert du compartiment périphérique vers le compartiment central
MW	g/mol	Poids moléculaire
N	---	Distribution normale
NAD	---	Approche de la moyenne naïve des données (Naive Average Data)
NONMEM	---	Modèle Non-Linéaire à Effets Mixtes (Non-Linear Mixed-Effect Model)
OF	---	Fonction objective (Objective Function)
OLS	---	Régression linéaire ordinaire (Ordinary Least Square)
Ω	---	Matrice de variance-covariance de l'erreur interindividuelle
ω^2	---	Variance de la variabilité interindividuelle
Σ	---	Variance de la variabilité intra-individuelle
σ^2	---	Variance de la variabilité intra-individuelle
θ	---	Paramètre fixe de population (theta)
T_{max}	min	Temps requis pour atteindre C_{max}
Vd	L	Volume de distribution
WLS	---	Régression linéaire pondérée (Weighted Least Square)
y_{ij}	ng/mL	Concentration observée pour un individu i au temps j

*À mon épouse, Marie-Pier et mon fils
Thomas sans qui rien ne serait possible.*

Remerciements

Je voudrais tout d'abord remercier ma directrice de recherche, Pr. France Varin, pour la confiance et le support dont vous avez fait preuve tout au long de mon cheminement. France, merci d'avoir cru en moi et de me permettre aujourd'hui de réaliser mes rêves !

Je voudrais également remercier mon codirecteur, Dr. Pierre Drolet, pour son professionnalisme, ses nombreux conseils et sa grande ouverture d'esprit à l'égard des différents projets de recherche réalisés durant ce périple doctoral.

Je désire également remercier les membres du jury d'avoir accepté de réviser cette thèse de doctorat. Soyez assurés de ma respectueuse considération.

Je tiens à remercier le Fonds de recherche du Québec en Santé pour leur appui financier durant les trois dernières années de doctorat. Merci d'avoir cru en mes capacités et en mon projet de recherche.

Merci également à la Faculté de pharmacie de l'Université de Montréal de m'avoir permis de m'épanouir non seulement en recherche, mais également en enseignement.

Je ne peux également passer sous silence la contribution de Johanne Couture et Nadia Godin durant mes travaux de recherche. Johanne et Nadia, merci de votre amitié.

Un merci tout particulier va à toi, Anne Nguyen, pour avoir rendu ce cheminement des plus agréables. Ces mots sont bien peu pour exprimer la reconnaissance que j'ai pour toi. Merci Anne.

Je profite également de ce bref paragraphe pour remercier les gens avec qui j'ai eu énormément de plaisir à travailler. Merci à Tasheen Wissanji, Fady Thomas, Paul Gavra, Sybil Robertsson, Véronique Bouvier, ainsi que Jérôme Maheux pour ces innombrables et inoubliables moments.

Enfin, je désire remercier mes amis, mes beaux-parents, mon beau-frère, mon frère et mes sœurs, mes parents ainsi que mon épouse et mon fils tant aimé, d'avoir accepté mon choix de carrière et d'avoir cru en moi. Je vous en suis très reconnaissant.

Avant-propos

Cette thèse est issue de travaux de recherche réalisés entre septembre 2007 et avril 2013, subventionnés par les Instituts de Recherche en Santé du Canada (IRSC). Le programme de recherche visait à optimiser l'utilisation clinique des anesthésiques locaux durant l'anesthésie locorégionale chez des patients subissant une chirurgie du genou. Il s'agissait d'une initiative du laboratoire de pharmacologie clinique de la Faculté de pharmacie menée en collaboration avec le département d'anesthésie et de réanimation de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont, affilié à l'Université de Montréal.

L'ouvrage se subdivise en trois parties comprenant dans un premier temps une introduction générale, suivie d'une deuxième section décrivant les travaux de recherche puis, finalement, une conclusion générale. Brièvement, l'introduction est composée d'une revue des notions relatives à la neurophysiologie, d'un rappel des propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques des anesthésiques locaux ainsi que des principes de modélisation utilisés à des fins de caractérisation/simulation de leur l'effet clinique. La seconde section est composée des cinq articles scientifiques découlant des travaux de recherche. Enfin, la dernière partie consiste en une discussion générale des résultats et perspectives de recherche.

Ces travaux de thèse ont fait l'objet, à l'heure actuelle, des publications suivantes :

Gaudreault F., Drolet P., Varin F. High Performance Liquid Chromatography Using UV Detection for the Simultaneous Quantification of Ropivacaine and Bupivacaine in Human *Plasma*. *Ther Drug Monit.* 2009. 31(6):753-7.

Gaudreault F., Drolet P., Fallaha M., Varin F. A Population Pharmacokinetic Model for the Complex Systemic Absorption of Ropivacaine after Femoral Nerve Block in Patients undergoing Knee Surgery. *Journal of Pharmacokinetic and Pharmacodynamic*, 2012. 39(6): 635-42.

SECTION I: INTRODUCTION

CHAPITRE 1: Aspects fondamentaux et cliniques de l'anesthésie locorégionale

La douleur constitue un important fléau pour notre société. Aux États-Unis seulement, les coûts directs et indirects qui y sont associés s'élèvent à plus de 125 milliards de dollars par année.¹ Au-delà de cette considération économique, la douleur impose des pressions sociales, psychologiques, familiales de grande importance sur les personnes concernées. Malgré les connaissances et moyens technologiques dont nous disposons, les Canadiens continuent de souffrir après une intervention chirurgicale, et ce, même dans les meilleurs hôpitaux du pays.² La douleur traitée inadéquatement compromet le fonctionnement du système immunitaire, ralentit la guérison, fait augmenter le taux de morbidité et de mortalité post-chirurgicales et il est même possible qu'elle soit associée à la récurrence oncologique.³

Parmi les actes chirurgicaux pratiqués annuellement aux États-Unis, près de 1 million sont effectués sur un genou ou une hanche.⁴ En une décennie seulement (de 1997 à 2007), ces interventions ont augmenté de 59 % à 140 %, respectivement.⁵ Le gouvernement canadien a d'ailleurs fait de l'arthroplastie totale du genou ou de la hanche une priorité nationale afin de garantir un délai d'attente raisonnable pour les patients concernés.⁶ Un traitement rapide, efficace et sécuritaire est essentiel non seulement pour la santé de ces patients, mais également pour la viabilité de notre système de santé.

Une importante contribution au soulagement de tels patients est l'utilisation de l'anesthésie locorégionale. Le bloc majeur des nerfs suivant l'injection d'un anesthésique local s'est avéré bénéfique pour un bon nombre de patients ayant eu recours à ce genre de procédure. En effet, plusieurs études suggèrent un meilleur contrôle de la douleur, une diminution du temps passé à l'hôpital et moins d'effets indésirables lors de l'utilisation de ces médicaments pour les chirurgies du genou.⁷⁻⁹

L'anesthésie locorégionale fait notamment appel à des techniques diverses au cours desquelles des anesthésiques locaux peuvent être injectés dans le liquide céphalo-

rachidien (*rachianesthésie*, Figure 1A) ou encore dans l'espace péri-dural (anesthésie *péri-durale*, Figure 1B). On parle alors de blocs neuraxiaux puisque les agents sont alors administrés à proximité de la moelle épinière. Les anesthésiques locaux peuvent également être administrés au voisinage des plexus ou des troncs nerveux (*blocs nerveux périphériques ou plexiques*, Figure 2) ou de façon encore plus distale par *infiltration* des tissus avoisinant la zone opérée (Figure 3).

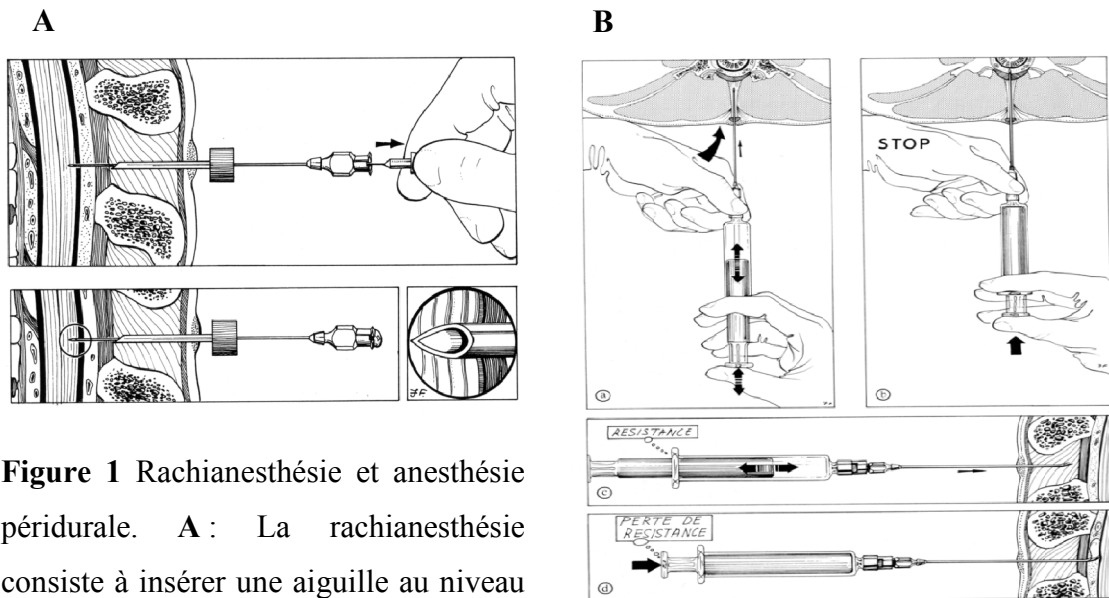


Figure 1 Rachianesthésie et anesthésie péri-durale. **A** : La rachianesthésie consiste à insérer une aiguille au niveau de l'espace sous-arachnoïdien lombaire et, après effraction méningée, à injecter une solution anesthésique dans le liquide céphalo-rachidien. **B** : L'anesthésie péri-durale est réalisée par l'administration d'un anesthésique local dans l'espace péri-dural, une zone entourant les méninges qui protègent la moelle épinière. a) L'ensemble aiguille seringue est avancé très progressivement de façon continue ou par paliers de 1 mm, le pouce exerçant une pression ferme mais constante sur le piston de la seringue. b) À l'arrivée dans l'espace péri-dural, le piston cède brutalement sous la pression, réalisant la classique "perte de résistance" c) Une aspiration soigneuse permet de confirmer l'absence de ponction vasculaire ou sous-arachnoïdienne. d) Le médicament est alors injecté. Une dose supérieure d'anesthésique local doit être administrée lors de la réalisation du bloc épidural lorsque comparé à la rachianesthésie.

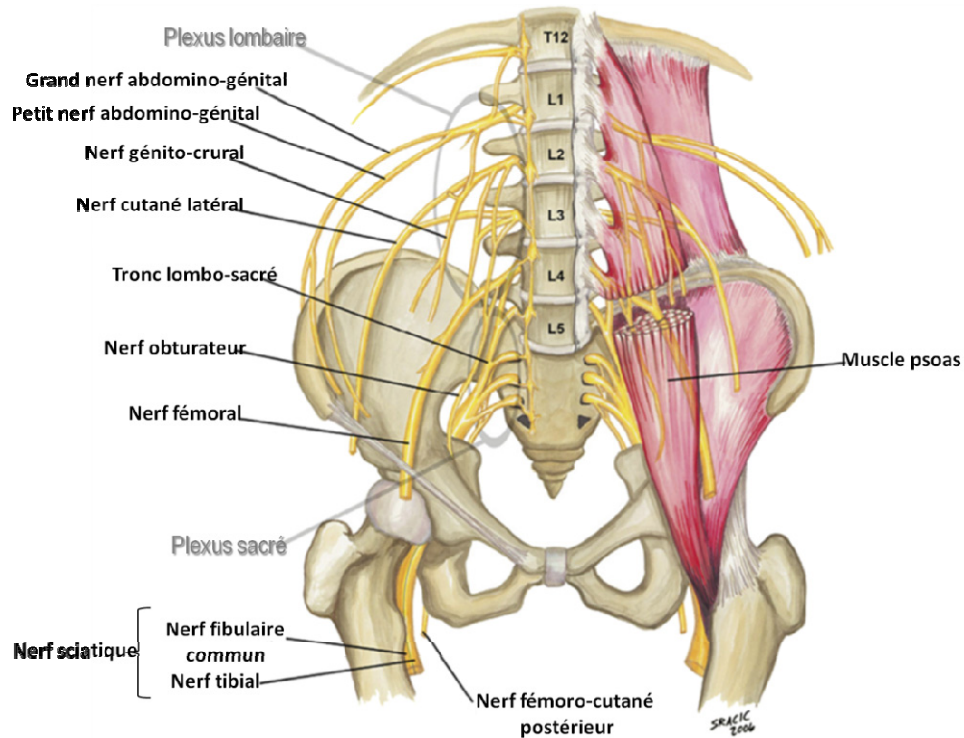


Figure 2 Bloc nerveux périphérique ou plexique. Ces techniques font appel à l'injection d'un anesthésique local à proximité des troncs nerveux, que ce soit à l'endroit où ceux-ci quittent la colonne vertébrale, ou encore plus distalement lorsqu'ils ont donné naissance aux nerfs périphériques. *Adaptée avec permission de Stein et al.¹⁰*

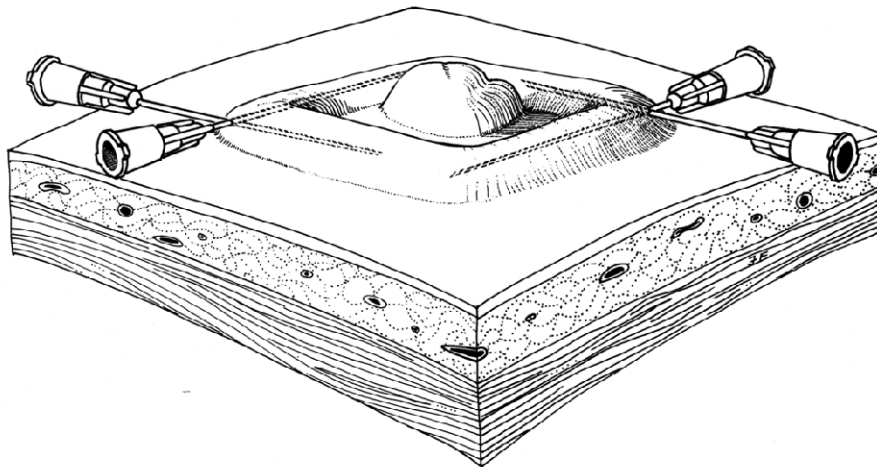


Figure 3 Anesthésie par infiltration sous-cutanée. L'infiltration correspond à l'injection d'un agent anesthésiant (anesthésique local) dans un espace tissulaire, généralement sous-cutané, à proximité immédiate du site opératoire.

La rachianesthésie comme l’anesthésie péridurale procure un bloc central bilatéral et symétrique (Figure 4). La rachianesthésie est utilisée pour les interventions de la région inférieure du tronc ou des membres inférieurs. Elle est donc particulièrement indiquée pour la mise en place d’une prothèse totale du genou. On peut aussi y avoir recours durant les chirurgies de l’appareil génital féminin ou masculin, du périnée et des membres inférieurs, ou en cas de césarienne. La rachianesthésie est d’effet plus rapide que l’anesthésie péridurale mais, à la différence de cette dernière, elle est généralement réservée aux opérations d’une durée inférieure à 3 h. En effet, l’utilisation d’un cathéter permettant la réinjection per ou postopératoire (visée analgésique), est généralement réservée à l’anesthésie péridurale.

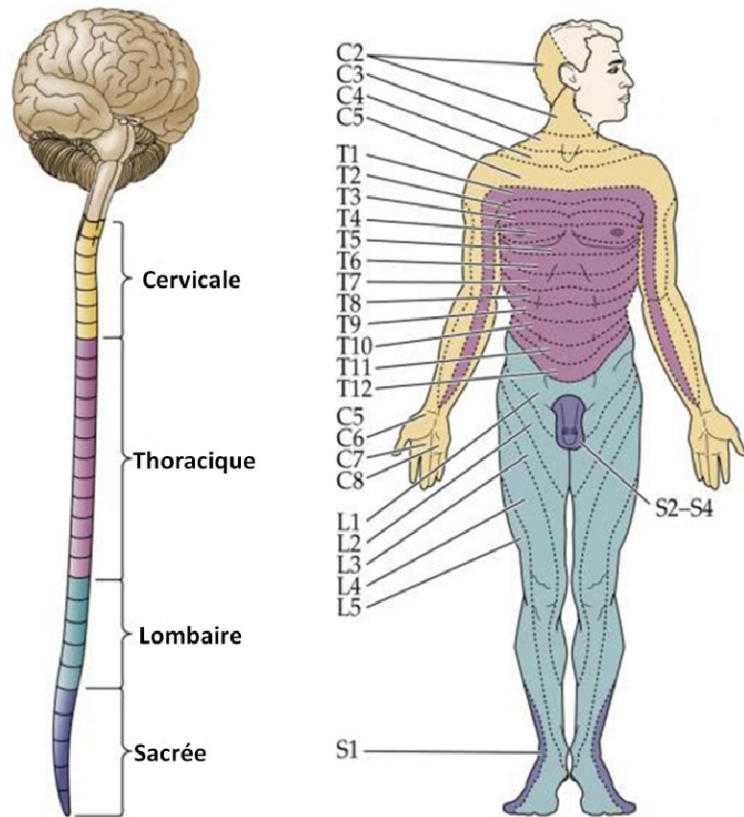


Figure 4 Expression sensitive du bloc après rachianesthésie et anesthésie péridurale. Le territoire cutané en forme de bande innervée par les racines nerveuses en provenance des différentes sections de la moelle épinière se nomme dermatome.

L'anesthésie locorégionale périphérique, quant à elle, permet une anesthésie plus ciblée, limitée à la région opérée. Elle permet aussi d'assurer une analgésie post opératoire très efficace, généralement dépourvue d'effets secondaires significatifs. Le tout peut être réalisé par l'injection d'une dose unique d'anesthésique local ou encore, à l'image de l'anesthésie péridurale, par l'insertion d'un cathéter qui permet la réinjection ou la perfusion d'agents prolongeant ainsi la période analgésique. Ainsi, les réactions indésirables des médicaments anti-douleur classiques comme la morphine (nausée, vomissements, démangeaisons) sont réduits.

Le vaste éventail d'anesthésiques locaux disponibles en clinique ne rend cependant pas facile la sélection de l'agent optimal à utiliser pour chacune de ces procédures. Le premier agent utilisé fut la cocaïne en instillation dans le cul de sac conjonctival :

« We tickled the solution under each others lifted eyelids. Then placed a mirror before us, took pins, and with the head tried to touch the cornea.

Almost simultaneously we were able to state jubilantly: I can't feel anything. »

Carl Koller, 1884.

Si la cocaïne, un médicament relativement toxique, n'est maintenant utilisée que rarement comme anesthésique local, son vaste potentiel antalgique a mené à d'intenses recherches pour un substitut plus sécuritaire. La figure 5 résume la chronologie de l'introduction sur le marché des principaux anesthésiques locaux utilisés couramment.

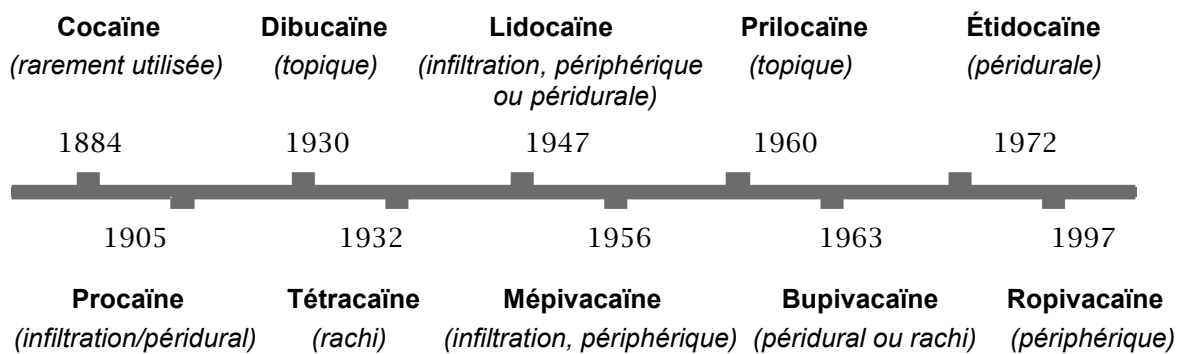


Figure 5 Chronologie de l'introduction sur le marché des principaux anesthésiques locaux. Les voies d'administration notées ne sont pas exclusives et représentent le/les utilisation(s) clinique(s) la/les plus courante(s).

1.1 Neurophysiologie et action anesthésiante locale

En guise d'introduction aux connaissances neurophysiologiques nécessaires à la compréhension de la pharmacologie clinique de ces agents, nous allons revoir sommairement la structure et le rôle des neurones, la propagation de l'influx nerveux ainsi que le mode d'action des anesthésiques locaux.

1.1.1 Histologie et cheminement de l'influx nerveux

Le neurone est constitué d'un corps cellulaire, de dendrites et d'un axone. Les *neurones sensitifs* ont leur corps cellulaire situé dans la racine dorsale du ganglion spinal. Un seul axone y est attaché, avec une longue branche qui s'étend vers la périphérie et une ramification plus petite vers la moelle épinière. L'influx nerveux afférent est généré par des récepteurs, tels que ceux de la peau, des articulations et des muscles situés au niveau de la partie distale du nerf.

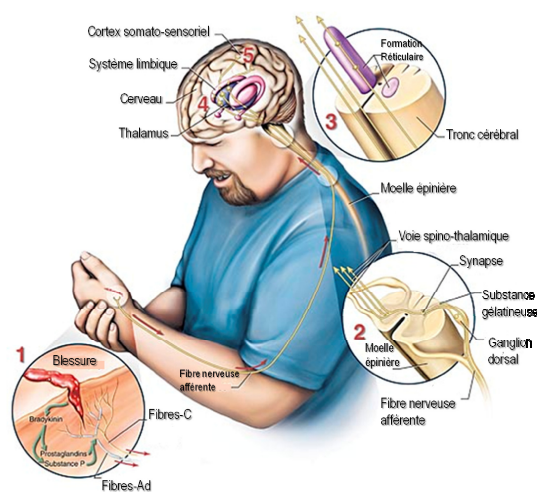


Figure 6 Cheminement de l'influx nerveux. 1) Une stimulation de nature mécanique, chimique ou thermique activera les récepteurs qui conduiront l'information, par le neurone primaire, jusqu'aux cornes postérieures de la moelle. 2) Une fois arrivé dans la moelle, un deuxième neurone permettra le cheminement de l'information par voie *spino-thalamique* jusqu'au cerveau. 3) Le deuxième neurone fera aussi des *contacts synaptiques* en passant dans le *tronc cérébral*. 4) Ultimement, l'influx nerveux sera intégré dans les différentes régions du cerveau. *D'après Marchand et al.* ¹¹

La douleur ne survient qu'en présence de stimuli intenses qui sont potentiellement ou effectivement dommageables pour l'organisme. Ces stimuli, comme ceux engendrés par la chirurgie orthopédique du membre inférieur, activent les « récepteurs » de la douleur ou *nocicepteurs* qui transmettront, par les voies *ascendantes*, le signal douloureux jusqu'au cerveau. Étant particulièrement sévère, la douleur postopératoire après une chirurgie orthopédique entraînera de l'inflammation et, parfois même, des dommages au système nerveux lui-même. Ces modifications s'expriment sous la forme de douleurs spontanées, d'une *hyperalgésie* (réponse douloureuse exagérée à la suite d'une stimulation douloureuse) ou encore d'*allodynie* (réponse douloureuse à la suite d'une stimulation non douloureuse).¹² On parle alors d'une *sensibilisation* ou augmentation de l'excitabilité des nocicepteurs. Ces récepteurs sont reliés à des fibres nerveuses de diamètre variable et à conduction plus ou moins rapide, les fibres A δ et C (Tableau I et Figure 7). Les fibres nerveuses de types A sont des fibres de diamètre élevé (jusqu'à 20 μm) *myélinisées* à conduction rapide alors que les fibres C (*amyélinisées*) sont de plus faible calibre (entre 1 et 3 μm diamètre) et ne permettent qu'une conduction relativement lente.

Tableau I Classification et caractéristiques physiologiques des fibres nerveuses

	A α	A β	A γ	A δ	C
Fonction	Motricité	Toucher/ Pression	Tonus musculaire	Douleur/ Température	Douleur/ Température
Myéline ^a	+++	+++	++	++	-
Diamètre (μm)	12 – 20	5 – 12	1 – 4	1 – 4	0,5 – 1
Vélocité (m/sec)	70 – 120	30 – 70	10 – 30	12 – 30	0,5 – 1,2
Sensibilité aux anesthésiques locaux	++	++	+++	+++	+ [†]

^a +++ , très myélinisées; ++ , modérément myélinisées; + , légèrement myélinisées; - , amyélinisées

^b +++ , très sensible aux anesthésiques locaux; et [†] le moins sensible

Adapté avec permission de Strichartz et al.¹³

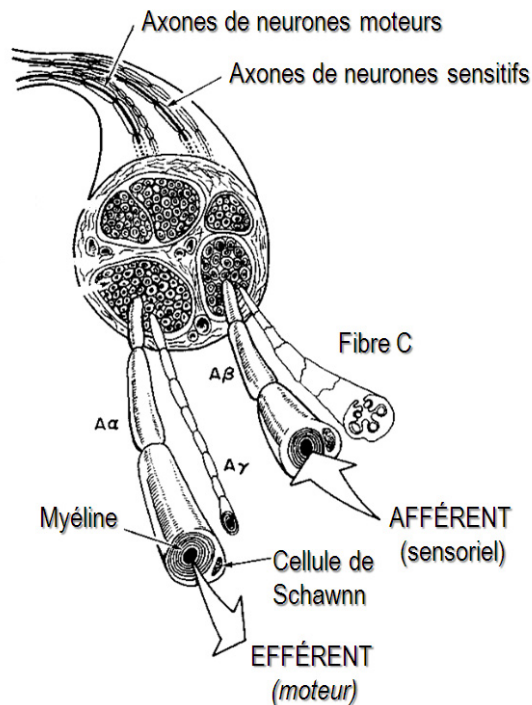


Figure 7 Fibres nerveuses périphériques. Les fibres A α (motrices) et A β (sensitives) se différencient essentiellement par la direction de la conduction qu'elles permettent. Les fibres A γ sont à visée proprioceptive et interviennent peu dans les processus douloureux. Seules les fibres A δ (non représentées), faiblement myélinisées, et les fibres C non myélinisées véhiculent les signaux douloureux. *D'après Mazoit et al.*¹⁴

La myéline est une substance constituée principalement de lipides qui protège les axones et les isole électriquement les uns des autres. La gaine de myéline permet d'augmenter la vitesse de propagation de l'influx nerveux le long des fibres qui en sont pourvues. Notons que la gaine de myéline recouvrant l'axone est d'épaisseur variable. En effet, l'axone est même découvert sur de petites sections. On appelle ces endroits les nœuds de Ranvier. Une telle structure permet à l'influx de progresser en bondissant d'un nœud de Ranvier à l'autre, accélérant ainsi sa propagation. C'est ce que l'on nomme la « *conduction saltatoire* ». Ne possédant pas de nœuds de Ranvier, les fibres non myélinisées sont caractérisées par une propagation de l'influx par contiguïté. La vitesse de conduction est alors plus lente.

Les fibres A- α montrent le diamètre le plus important, elles constituent les neurones efférents (moteur) qui innervent directement les muscles squelettiques. Les fibres A- β contribuent aux neurones sensoriels afférents en provenance des muscles, des articulations et de la peau qui transmettent les sensations de toucher et de pression. Les fibres A- γ sont des petites fibres efférentes qui contrôlent le tonus musculaire et enfin, les plus petites, les afférentes A- δ , desservent les sensations de douleur et de température. Les fibres C conduisent également les sensations de douleur et température. Étant amyélinisées et de faible diamètre, elles sont plus particulièrement responsables de la douleur secondaire (sensation diffuse de brûlure) perçue à la suite d'une stimulation nociceptive. Nous reviendrons un peu plus loin sur l'action pharmacologique préférentielle des anesthésiques locaux à l'égard de certaines fibres nerveuses.

1.1.2 L'influx nerveux à l'échelle moléculaire

La production et la transmission de l'influx nerveux (ou *potentiel d'action*) dans un neurone stimulé ou une cellule musculaire dépendent du flux de courant ionique à travers des canaux spécifiques situés sur la membrane plasmique de l'axone.¹⁵ Ces canaux s'ouvrent et se ferment en réponse à des changements du potentiel de membrane, et ils sont la cible des anesthésiques locaux qui, de par leur mode d'action, inhibent la propagation du potentiel d'action (voir section 1.1.3).

Le potentiel de membrane cellulaire est maintenu grâce à une perméabilité sélective à l'égard de certains ions, en particulier le sodium (Na^+), le potassium (K^+), le chlore (Cl^-) et le calcium Ca^{+2}). Ainsi, le cytoplasme contient une plus faible concentration de Na^+ et jusqu'à dix fois plus d'ions K^+ que le liquide interstitiel qui l'entoure. Le gradient de concentration permettant le passage des ions de part et d'autre de la membrane dépend de la pompe Na^+/K^+ activée par l'adénosine triphosphate (ATP) qui assure le transport actif du K^+ et Na^+ vers l'intérieur et l'extérieur de la cellule, respectivement.¹⁶ La différence de potentiel ainsi créée se nomme *potentiel de repos* et varie entre -60 et -70 mV.

Lorsqu'un potentiel d'action est généré, l'ouverture transitoire des canaux sodiques, qualifiés de voltage-dépendants, entraîne l'entrée massive d'ions Na^+ dans la cellule. Cet

apport intracellulaire de charges positives dépolarise le neurone si bien qu'une fois le *seuil critique* atteint (-55 mV), la conductance sodique s'accroît et le potentiel de membrane passe subitement à près de +35 mV. La *phase de dépolarisation*, limitée par l'inactivation spontanée du canal sodique, ne dure qu'une ms (Figure 8A), avant d'être suivie par l'ouverture plus lente des canaux potassiques par lesquels diffusent les ions K^+ vers l'extérieur de la cellule (Figure 8B). Le milieu intracellulaire perd alors progressivement de sa positivité et le potentiel de membrane atteint même une valeur encore plus négative que la valeur au repos (*hyperpolarisation*). Cette *phase de repolarisation* est marquée par l'inexcitabilité membranaire et correspond à la *période réfractaire*. Le retour aux conditions électrochimiques initiales se fait par l'activation de la pompe Na^+/K^+ .

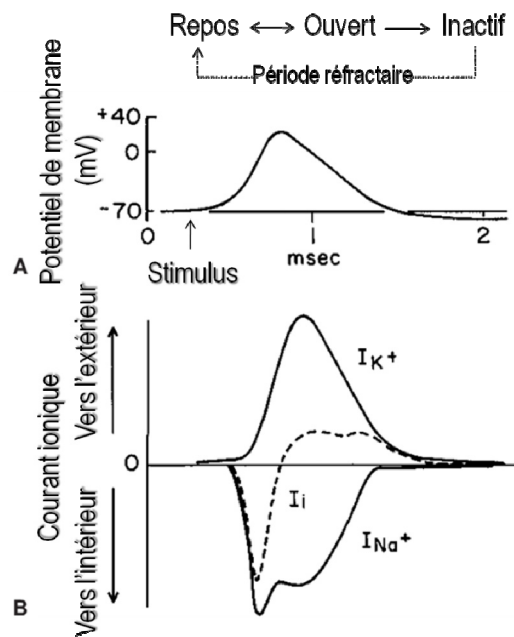


Figure 8 Genèse du potentiel d'action et perméabilité aux courants ioniques. **A** : Le potentiel de membrane passe de sa valeur de repos (-70 mV) jusqu'à environ +35 mV avant de se repolariser. La période réfractaire se termine au moment où le canal ionique retrouve l'état de repos, ce qui permet à nouveau l'activation. **B** : La perméabilité de la membrane au sodium (I_{Na^+}) et au potassium (I_{K^+}) varie en parallèle, dictant du même coup la valeur nette du courant ionique transmembranaire (I_i). *Adaptée avec permission de Strichartz et al.*¹³

1.1.3 Mode d'action des anesthésiques locaux

Les anesthésiques locaux inhibent la propagation du potentiel d'action en interagissant avec l'activité ionique des canaux sodiques.¹⁷ La présence de l'anesthésique local en concentration suffisante dans la sous-unité alpha du canal¹⁸ entraîne une réduction du courant de dépolarisation qui ne peut atteindre la valeur seuil, d'où un blocage de la propagation de l'influx nerveux. Ce blocage obéit à un double mécanisme, soit *tonique* et *phasique* (Figure 9).

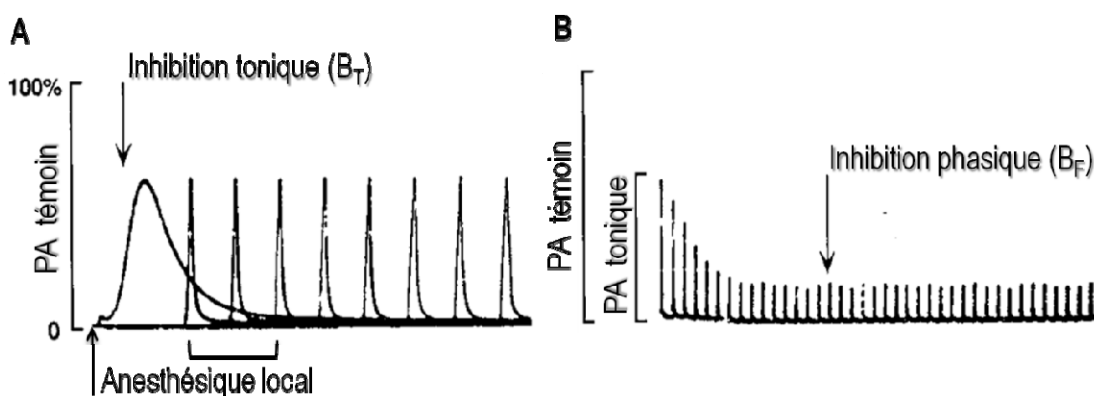


Figure 9 Bloc nerveux tonique (B_T) et fréquence-dépendant (B_F) suivant l'administration d'un anesthésique local sur un axone. Le potentiel d'action (PA) témoin (100%) est obtenu sans anesthésique local. **A** : L'inhibition tonique correspond à la diminution relative de l'amplitude du PA durant une stimulation nerveuse à basse fréquence, 0.016 Hz (oscillations.sec⁻¹) dans ce cas-ci. **B** : L'inhibition phasique survient à plus haute fréquence (40 Hz, ici) et correspond à un bloc dont l'intensité s'accroît avec la fréquence de stimulation jusqu'à l'obtention d'un nouvel état stable. Ce bloc est réversible au niveau tonique une fois la stimulation ralentie. La ligne horizontale étalonne l'échelle de temps : 2 et 20 msec dans A (potentiel d'action large et étroits, respectivement) et de 200 msec dans B. *Adaptée avec permission de Bokesch et al.*¹⁹

L'amplification de l'intensité du bloc parallèlement à l'accroissement de la fréquence de stimulation pourrait résulter d'une action préférentielle des anesthésiques locaux sur les canaux ouverts ou inactivés. Cette *théorie du récepteur modulé*²⁰ repose sur le postulat que l'affinité du récepteur pour son ligand varie avec l'état du canal ionique

correspondant, qui passe successivement, pour chaque potentiel d'action, de l'état de repos, à l'état ouvert, puis, en quelques msec, à l'état bloqué, puis inactivé pour finalement retourner à l'état de repos après une brève phase d'hyperpolarisation (Figure 8A). De fait, l'affinité des anesthésiques locaux serait plus élevée pour les canaux ouverts et inactivés que pour ceux à l'état de repos.²¹ Ainsi, si un autre potentiel d'action survient avant que la totalité de l'agent anesthésiant ne soit dissociée du canal (à l'état de repos), il se produit un renforcement du bloc. Ce mécanisme, est décrit pour les fibres nerveuses comme pour les fibres cardiaques, et permet notamment d'expliquer la cardiotoxicité plus marquée de la bupivacaïne comparativement à d'autres anesthésiques locaux (voir section 1.4).²² L'application du mécanisme phasique à l'échelle de la fibre nerveuse rend compte d'un aspect électrophysiologique fondamental appelé *conduction décrémente*lle. Il existerait, en effet, une corrélation positive entre la qualité et l'intensité du bloc et la longueur de fibre nerveuse exposée à l'anesthésique local.²³ De ce fait, si la longueur de fibre exposée à l'anesthésique local est suffisante et la fréquence de stimulation élevée, la sommation des effets individuels, par transmission de la dépolarisation d'un nœud à l'autre, va permettre l'affaiblissement progressif de l'amplitude du potentiel d'action et l'installation du bloc (Figure 10). Comme la distance internodale augmente généralement avec la longueur de la fibre, les fibres nerveuses de grande taille seraient plus résistantes à l'action locale anesthésiante.

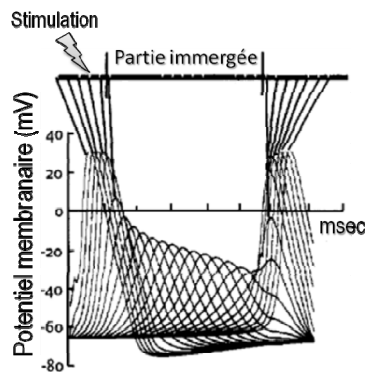


Figure 10 Conduction décrémente. Le potentiel d'action est d'amplitude normale au niveau des premiers nœuds de Ranvier. En présence d'une concentration suffisante d'anesthésique local (partie immergée), l'intensité du potentiel décroît progressivement le long des nœuds adjacents. *Adaptée avec permission de Raymond et al.*²³

Ce *bloc différentiel*, plus marqué pour les fibres peu (A delta) ou non myélinisées (C), est caractérisé par la dissociation entre bloc moteur, bloc sensitif et bloc végétatif qui sont dus aux blocages respectifs des fibres $A\alpha$, $A\beta$, $A\delta$ et des fibres C (Tableau I). De fait, pour interrompre la conduction nerveuse des axones myélinisés, les anesthésiques locaux doivent bloquer la dépolarisation de deux ou trois nœuds de Ranvier adjacents. Ainsi, pour une même distance baignée par l'agent anesthésiant, une fibre $A\delta$ aura 5 à 8 fois plus de nœuds bloqués qu'une fibre $A\alpha$. Cet effet s'exprime cliniquement par la perte séquentielle de la sensation de piquûre ($A\delta$), du toucher ($A\beta$), de température (C) (Figure 11). Le bloc différentiel pourrait également s'expliquer par la sélectivité plus ou moins importante des anesthésiques locaux envers les canaux sodiques et potassiques.²⁴

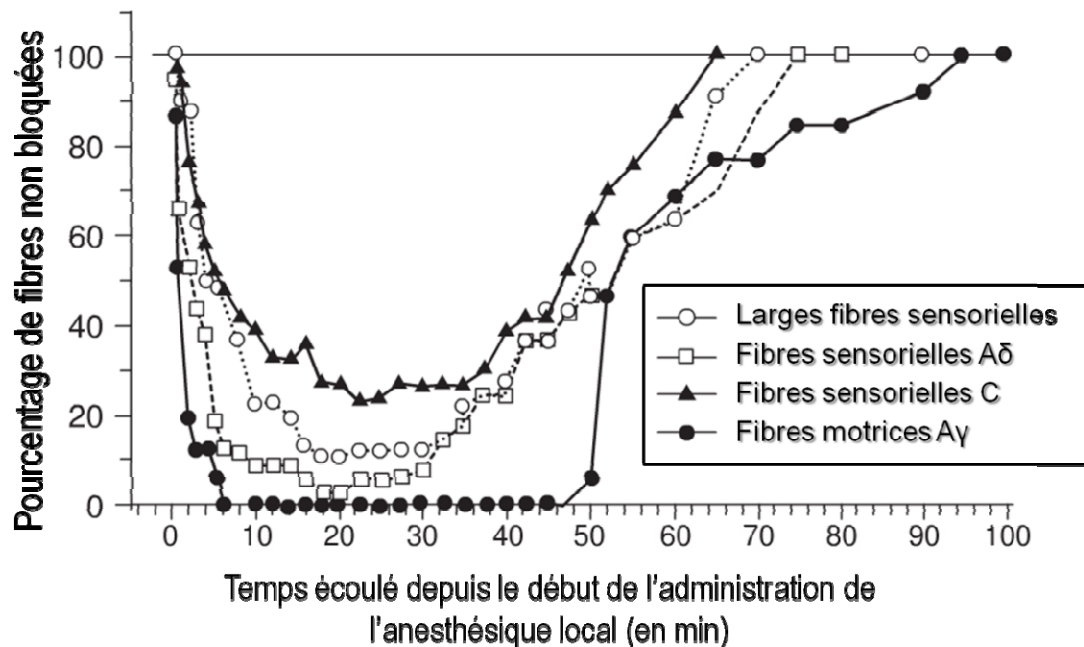


Figure 11 Bloc différentiel du nerf sciatique après l'administration d'une solution 0.5 % de lidocaïne chez le rat. L'anesthésique local agit d'abord sur l'activité des fibres motrices $A\gamma$, suivi par les fibres sensorielles $A\delta$ (piquûre), $A\beta$ (toucher) puis enfin par les fibres non myélinisées de type C (température). *Adaptée avec permission de Gokin et al.*²⁵

1.2 Propriétés pharmacocinétiques des anesthésiques locaux

Pour parvenir au(x) site(s) d'action, le médicament doit d'abord diffuser à travers plusieurs couches de tissus; étape qui dépend essentiellement de la nature du site d'injection et des particularités pharmacocinétiques de l'agent utilisé.

1.2.1 Propriétés physicochimiques

La structure chimique des anesthésiques locaux est typiquement composée de deux pôles (lipophile et hydrophile) séparés par une chaîne intermédiaire. Le groupement aromatique est responsable des propriétés lipophiles de la molécule alors que la polarité est conditionnée par le groupement amine (Figure 12). La nature de la chaîne intermédiaire (ester, éther ou amide) intervient notamment dans le métabolisme (voir section 1.2.5) des anesthésiques locaux et permet de les classer en aminoesters et aminoamides.

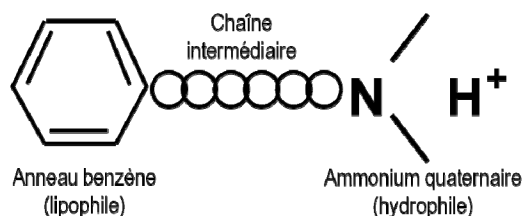


Figure 12 Configuration chimique des anesthésiques locaux. Le cycle aromatique et l'amine confèrent aux anesthésiques locaux un caractère à la fois lipophile et hydrophile.

Certaines préparations commerciales d'anesthésique local existent sous forme de mélange racémique formé de deux *énantiomères*. C'est le cas de la Marcaïne®, solution acide de bupivacaïne sous forme *lévogyre* et *dextrogyre* (Figure 13). Les deux énantiomères ont des propriétés physicochimiques similaires, mais diffèrent aux niveaux pharmacocinétique et pharmacodynamique. Cette différence serait attribuable à une stéréosélectivité plus importante de la *lévo*-bupivacaïne (Chirocaïne®) envers les protéines plasmatiques²⁶ et les canaux sodiques.²⁷ Ces éléments ont été repris comme

principaux arguments lors de la commercialisation de la Chirocaïne® qui s'avère moins cardiotoxique que la Marcaïne®.²⁸ En revanche, la ropivacaïne (Naropin®), un isomère pur, est relativement sécuritaire et possède des propriétés pharmacologiques semblables à la bupivacaïne (voir section 1.3). Les principales propriétés physico-chimiques des anesthésiques locaux sont présentées dans le tableau II.

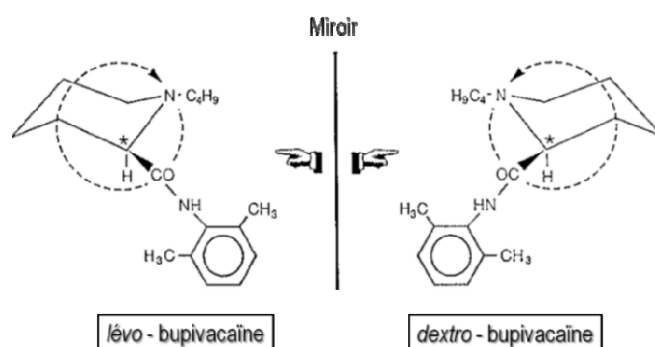


Figure 13 Structure chimique des isomères lévogyres et dextrogyres de la bupivacaïne.

Tableau II Propriétés physicochimiques des principaux anesthésiques locaux

Agent	Propriétés physicochimiques				
	Poids moléculaire (Da)	pKa (25°C)	Coefficient de distribution ^a	Solubilité aqueuse ^b (mg/mL)	Liaison aux protéines plasmatiques (%)
<i>Aminoesters</i>					
Procaïne	236	9.05	1.7	94	6
Tétracaïne	264	8.97	9.0	50	-
<i>Aminoamides</i>					
Lidocaïne	234	7.91	2.4	24	64
Étidocaïne	276	7.70	800	-	94
Mépipivacaïne	246	7.76	21	15	77
Ropivacaïne	262	8.20	115	54	95
Bupivacaïne	288	8.16	346	0.83	96

^a n-octanol / tampon pH 7.4

^b dans une solution acide à 37°C et de pH 7.37

Données obtenues dans Strichartz et al.²⁹

En fonction de la structure et des propriétés physicochimiques des anesthésiques locaux, il est possible de dresser le portrait de leur devenir local/systemique dans n'importe quelle partie du corps. Ce faisant, le sort de l'agent utilisé est ultimement lié à la *diffusion tissulaire locale* au site d'injection, aux particularités de la *formulation* utilisée ainsi qu'à la *diffusion* et *l'affinité relative* de l'anesthésique local pour les tissus environnants (Figure 14).

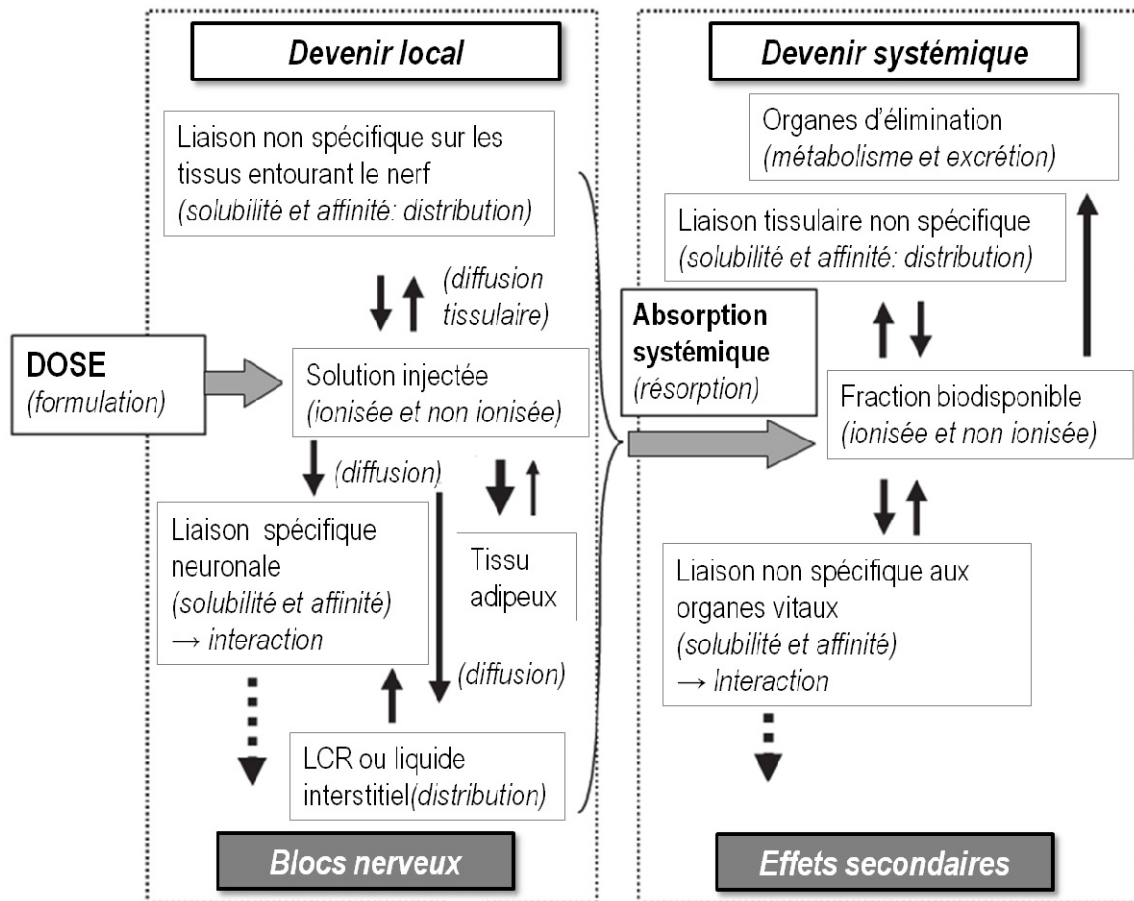


Figure 14 Modèle conceptuel décrivant le devenir local d'un anesthésique suivant l'administration d'une dose pour l'anesthésie locorégionale. LCR : liquide céphalo-rachidien *Adaptée avec permission de Mather et al.*³⁰

1.2.2 Devenir local

La première étape du devenir local de l'anesthésique local est le mouvement de masse de la solution injectée (diffusion latérale). Cette étape est particulièrement importante

lors de l'anesthésie rachidienne alors que le médicament diffuse de part et d'autre du site d'injection (c.-à-d. perfusion locale) en fonction de la densité du liquide ainsi que de la posture du patient. Différentes stratégies existent pour modifier la baricité de la solution injectée, notamment en y ajoutant du dextrose (glucose). Une solution d'anesthésique local de densité inférieure, dite *hypobare*, s'étendra en direction opposée à la gravité alors qu'une solution *hyperbare* diffusera selon la gravité. La formulation d'anesthésique local peut également être modifiée de façon à altérer l'équilibre acido-basique de la solution. L'équilibre entre la forme base (B) et ionisée (BH⁺) est régi par l'équation d'Henderson-Hasselbalch et dépend de la constante de dissociation de l'acide conjugué (pKa) et du pH local de la solution ou du milieu environnant:

$$\frac{\text{ionisée}}{\text{non ionisée}} = \frac{BH^+}{B} = 10^{(pKa-pH)}$$

Comme les anesthésiques locaux sont des bases faibles, seule leur forme base (non ionisée) est susceptible de franchir les membranes cellulaires alors que la fraction ionisée est celle qui agira sur le canal sodique (Figure 15). Ainsi, une alcalinisation (augmentation du pH) de la préparation d'anesthésique local par l'ajout de bicarbonate augmentera le ratio base / acide conjugué ce qui, de manière parallèle, augmentera la vitesse de diffusion à travers la membrane axonale. Bien que ce phénomène soit bien caractérisé durant l'anesthésie péridurale,³¹ d'autres études seront nécessaires afin de démontrer l'effet du changement de pH durant les blocs nerveux périphériques.

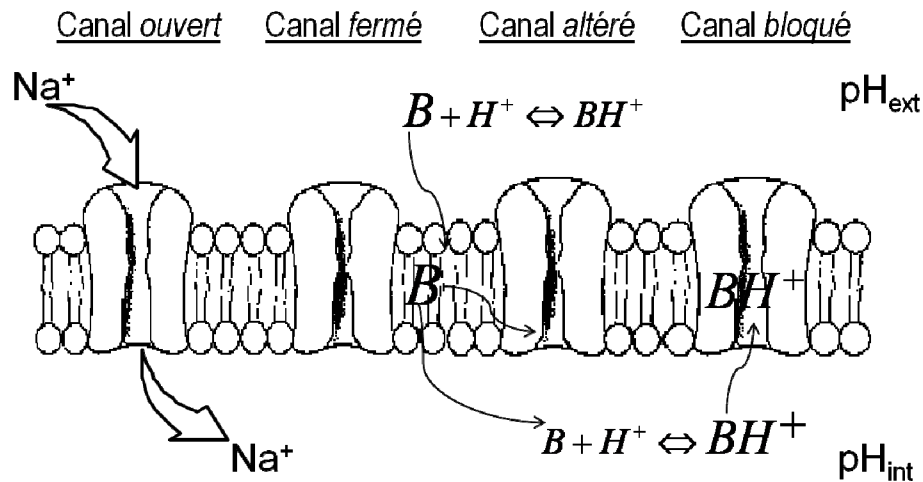


Figure 15 Équilibre acido-basique des anesthésiques locaux. Dans le milieu extracellulaire ($\text{pH}_{\text{ext}} \sim 7.2 - 7.4$), la forme non ionisée (B) prédomine et diffuse vers la partie intracellulaire. Sur son passage, l'anesthésique local peut modifier la configuration du canal sodique. Une fois parvenu à l'intérieur de la cellule, le plus faible pH du milieu environnant ($\text{pH}_{\text{int}} \sim 6.8 - 7.2$) modifiera l'équilibre acido-basique. La forme ionisée (BH^+), maintenant majoritaire, sera libre de bloquer l'activité du canal sodique.

Selon la loi de Fick, la vitesse de diffusion *passive* (dQ/dt) des anesthésiques locaux en provenance de leur(s) site(s) d'administration vers la partie intracellulaire est proportionnelle au coefficient de distribution (D) de la molécule, à la surface d'échange (S), à l'épaisseur de la membrane (E) ainsi qu'au gradient de concentration de la molécule de part et d'autre de la membrane (ΔC):

— ———

La nature plutôt hydrophobe des anesthésiques locaux facilite ce transfert, mais certaines molécules trop lipophiles sont retenues à la surface de la membrane si bien que leur passage transmembranaire est considérablement ralenti. C'est le cas notamment de la bupivacaïne pour laquelle l'espace épidual³² s'avère trois fois moins perméable que pour la lidocaïne, et ce, malgré un coefficient de distribution 100 fois plus élevé

(Tableau II). La liaison non spécifique de l'anesthésique local sur les tissus adipeux avoisinants pourrait également expliquer ce phénomène.

L'épaisseur de la membrane influence non seulement la vitesse de diffusion transmembranaire, mais également la dose d'anesthésique local nécessaire pour bloquer la conduction nerveuse. Aux fins de comparaison, la concentration molaire d'une solution de lidocaïne 1% utilisée en clinique pour le bloc d'un nerf périphérique est d'environ 40 mM, soit 50 fois plus élevée que la concentration minimale inhibitrice de l'axone isolé *in vitro*.^{33,34} De tels dosages peuvent être toxiques, surtout lors d'une injection intraveineuse accidentelle. L'utilisation de l'imagerie par ultrasons, pour localiser le nerf, combinée à l'ajout d'agent vasoconstricteur (épinéphrine), afin de diminuer l'absorption systémique du médicament, est utilisée dans le but de réduire l'incidence de réactions adverses (voir section 1.4). Néanmoins, une absorption systémique significative demeure possible et une connaissance approfondie des différents mécanismes régissant la toxicité est alors nécessaire.

1.2.3 Absorption systémique

En absence de métabolisme local, toute dose d'anesthésique local déposée à proximité d'un nerf (*injection périneurale*) sera éventuellement absorbée dans la circulation systémique.³⁵ L'importance et la vitesse d'absorption systémique dépendent de la vascularisation de l'espace périneural et du coefficient de distribution de l'agent utilisé.³⁶ En effet, la valeur nette résultante sera directement proportionnelle à la perfusion locale de l'espace périneural et inversement proportionnelle au coefficient de distribution de l'agent. Cette particularité des anesthésiques locaux donne lieu à une absorption biphasique durant laquelle une fraction de la dose administrée pénètre rapidement dans le flux sanguin systémique pendant que l'autre partie, en provenance des tissus adipeux adjacents, est redistribuée beaucoup plus lentement vers la circulation systémique (Figure 16).³⁷

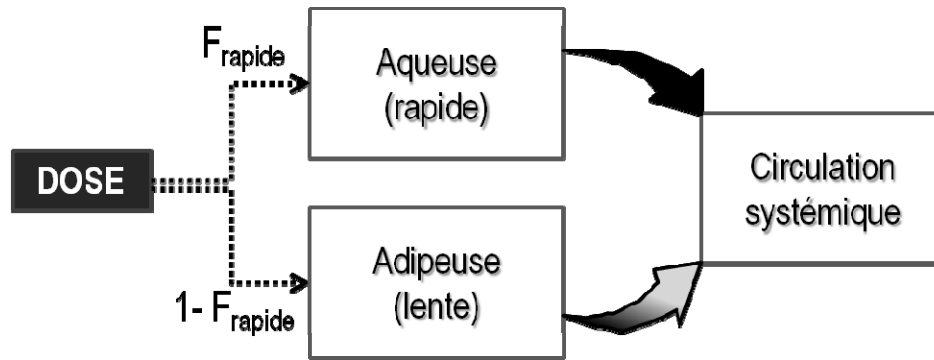


Figure 16 Modèle conceptuel de l'absorption biphasique des anesthésiques locaux après administration périaurale. Au site d'injection, la dose est divisée en deux fractions (F) (aqueuse et adipeuse) ayant une vitesse d'absorption rapide et lente, respectivement.

Les concentrations plasmatiques maximales (C_{max}) sont généralement atteintes entre 15 et 90 min (T_{max}) suivant l'administration de l'anesthésique local. Ces paramètres dépendent surtout de la nature du site d'injection, de l'agent utilisé, de la dose, de la présence d'agent vasoconstricteur ainsi que de la vitesse d'administration.^{38,39} Ainsi, après une application sur une muqueuse richement vascularisée, les concentrations plasmatiques obtenues peuvent être similaires à celles observées après une injection intraveineuse pour un médicament auquel la muqueuse s'avère très perméable. C'est le cas notamment de la lidocaïne qui, administrée à une dose de 400 mg pour un bloc intercostal ou paravertébral, entraîne un C_{max} d'environ 7 $\mu\text{g/mL}$ susceptible de générer des signes de toxicité neurologique centrale (voir section 1.4). La même dose administrée pour un bloc du plexus brachial entraîne, quant à elle, un taux plasmatique moyen inférieur à 3 $\mu\text{g/mL}$, donc non toxique.⁴⁰ Les implications cliniques sont considérables dans la mesure où une dose donnée d'un anesthésique local est potentiellement toxique par certaines voies d'administration locorégionale et non par d'autres.

1.2.4 Distribution et liaison aux protéines

Tel qu'illustré à la figure 14, les anesthésiques locaux, une fois absorbés dans la circulation systémique, se distribuent dans l'organisme en fonction de la perfusion sanguine des différents tissus et du coefficient de distribution de l'agent. L'équilibre de

distribution est atteint rapidement dans les organes richement perfusés tels que le cœur, le foie et les poumons, suivi des tissus moins vascularisés que l'on retrouve principalement en périphérie. Le *volume apparent de distribution* (V_d) des différents anesthésiques locaux dépend en partie de la lipophilicité de l'agent, de son degré d'ionisation ainsi que de son affinité relative envers les protéines plasmatiques (Tableau II), plus particulièrement l'albumine et l'*alpha1-glycoprotéine*.

L'albumine est une protéine d'environ 10 kDa très abondante (40 g/L) dans le plasma. La liaison des anesthésiques locaux à l'albumine se caractérise par une faible affinité, mais une grande capacité (pratiquement insaturable) tandis que c'est l'inverse pour l'*alpha1-glycoprotéine* (42 kDa) dont la concentration plasmatique est normalement de 0,8 à 1 g/L.^{41,42} Les niveaux d'*alpha1-glycoprotéine* augmentent en cas de syndrome inflammatoire et en particulier dans les heures qui suivent une intervention chirurgicale⁴³ ou un traumatisme⁴⁴. Cet effet atteint généralement un maximum plus de 48 h suivant l'opération et n'influence pas les niveaux plasmatiques d'albumine (Figure 17).

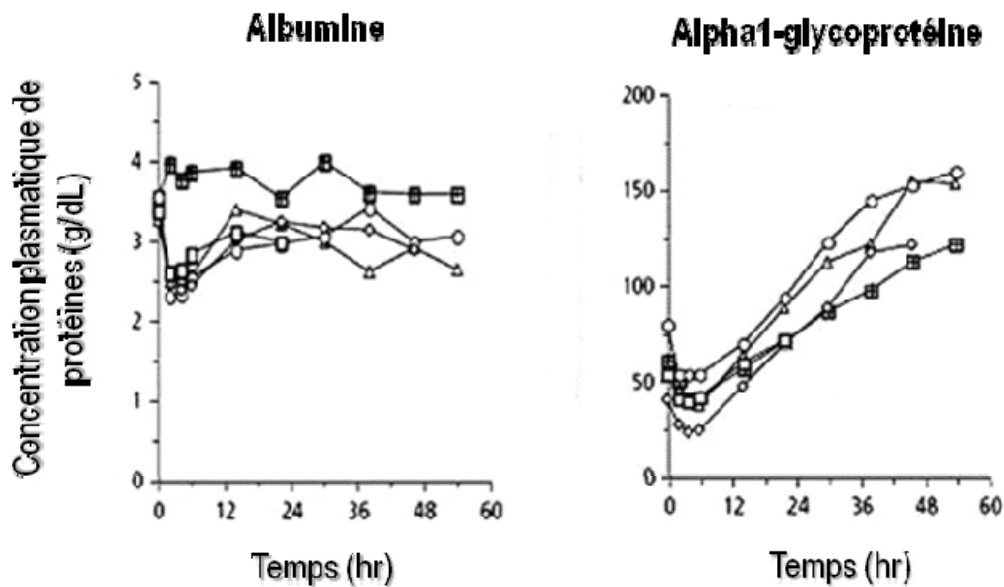


Figure 17 Relations entre les niveaux plasmatiques de protéines (albumine et *alpha1-glycoprotéine*) et le temps (en heures) après la chirurgie. *Élaborée à partir de données obtenues dans Clément et al.*⁴⁵

1.2.5 Métabolisme et élimination

La plupart des anesthésiques locaux sont biotransformés par voie enzymatique avant d'être éliminés par excrétion rénale. Seule une faible fraction de la dose administrée (< 10%) est éliminée sous forme inchangée dans les urines. Les aminoesters (Tableau II) sont hydrolysés dans le plasma par des estérases non spécifiques ou pseudochoolinestérases⁴⁶ alors que les aminoamides sont catabolisés par les microsomes hépatiques. Les métabolites ainsi formés sont généralement inactifs et non toxiques, mais l'un d'eux, l'acide para-aminobenzoïque, est connu pour ses propriétés allergisantes (voir section 1.4.3).⁴⁷ Le métabolisme peut être divisé en deux phases distinctes et complémentaires : les transformations métaboliques de *phase I* et de *phase II*.

Les transformations métaboliques de phase I regroupent les réactions d'oxydation, de réduction et d'hydrolyse. Ce sont des réactions dites cataboliques et irréversibles. À l'inverse, les transformations de phase II sont réversibles et consistent en des réactions de conjugaison (conjugés d'acide glucuronique, glutathion, sulfate). Les principaux acteurs des réactions de phase I sont des enzymes appartenant à la superfamille des cytochromes P450 (CYP450). On les retrouve principalement dans les organes de métabolisme tels que le foie et les intestins, mais aussi, à plus faible niveau, dans les poumons, les reins et la peau. La lidocaïne et la bupivacaïne sont surtout métabolisées par l'isoenzyme CYP3A4,⁴⁸ alors que la ropivacaïne est principalement métabolisée par le CYP1A2 et, dans une moindre mesure, par le CYP3A4 (Figure 18).⁴⁹

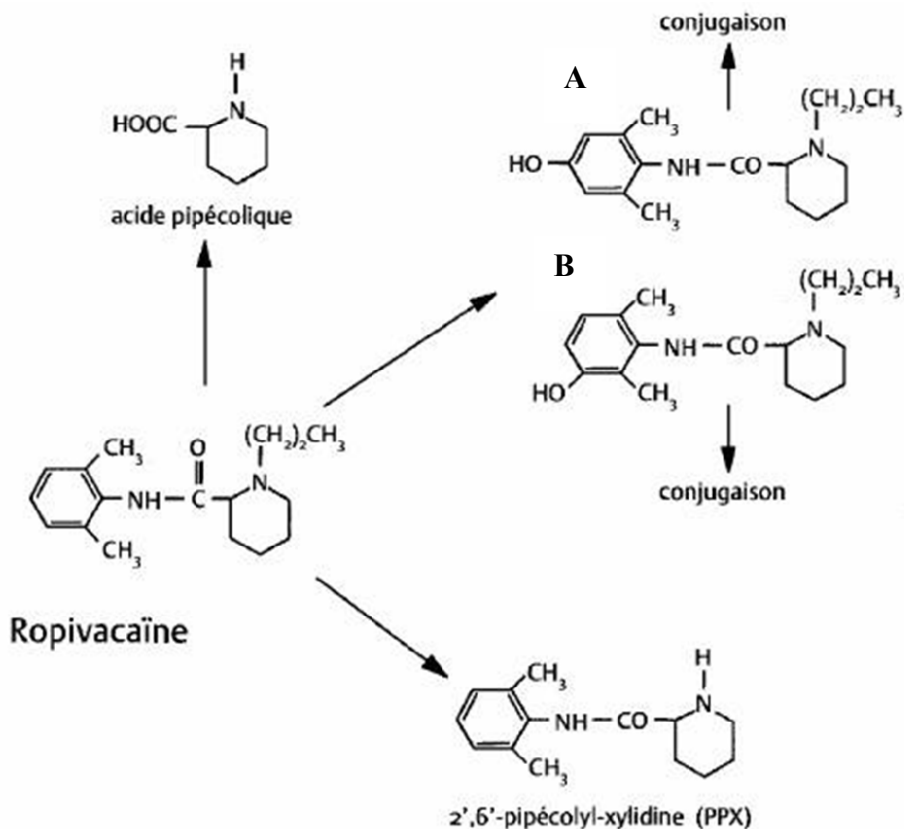


Figure 18 Métabolisme de la ropivacaïne. Contrairement à la lidocaïne et à la bupivacaïne, la ropivacaïne est métabolisée principalement par le CYP1A2. Les dérivés hydroxylés, dont la 3-hydroxyropivacaïne (A) et la 2-hydroxyropivacaïne (B) sont les métabolites principaux. La PPX et l'acide pipécolique sont produits en plus faible quantité. *Reproduit avec permission de Mazoit et al.*⁵⁰

La *clairance* (CL), reflet de la capacité de l'organisme à épurer un médicament du sang, est principalement gouvernée, au niveau hépatique (CL_H), par le modèle « well-stirred »⁵¹ qui tient compte du *débit sanguin hépatique* (Q_H), de la *clairance intrinsèque* (CL_{int}) et de la *fraction libre* du principe actif dans le sang (f_{libre}) :

où E_H correspond au coefficient d'extraction hépatique ($0 < E_H < 1$). Lorsque le foie extrait fortement un médicament ($E_H > 0,7$), la clairance hépatique est dite *débit-dépendante*. En effet, lorsque E_H tend vers 1, il s'ensuit que :

$$CL_H = Q_H \cdot E_H = Q_H \cdot \frac{f_{libre} \cdot CL_{int}}{Q_H \ll f_{libre} \cdot CL_{int}} \rightarrow Q_H$$

Tous les facteurs qui influenceront le débit hépatique modifieront donc la clairance de ce médicament. Ainsi, des changements au niveau de la fraction libre ou de la clairance intrinsèque auront peu d'influence sur la clairance hépatique. On parlera d'un médicament à clairance hépatique débit-dépendante. C'est le cas de la lidocaïne qui, avec un coefficient d'extraction hépatique élevé ($0.70 < E_H < 0.85$), est très sensible à toute baisse du débit cardiaque, lequel réduit à son tour le débit hépatique. Les variations hémodynamique qui surviennent notamment après l'administration d'agents bêtabloquants,⁵² après un infarctus du myocarde⁵³ ou encore durant une ventilation en pression positive⁵⁴ doivent donc être prises en considération lorsque le clinicien réalise une anesthésie locorégionale avec la lidocaïne chez des patients à risque.

À l'inverse, la bupivacaïne a un coefficient d'extraction hépatique beaucoup plus faible ($E_H < 0.4$). Elle est donc moins sensible que la lidocaïne à une baisse éventuelle du débit cardiaque, mais dépend de manière plus importante de la capacité métabolique intrinsèque du foie et de l'affinité relative du principe actif pour les protéines plasmatiques :

$$CL_H = Q_H \cdot E_H = Q_H \cdot \frac{f_{libre} \cdot CL_{int}}{Q_H \gg f_{libre} \cdot CL_{int}} \rightarrow f_{libre} \cdot CL_{int}$$

Ainsi, une augmentation de la fraction libre, par exemple suite à une acidose métabolique⁴¹, augmentera la clairance totale et diminuera la concentration totale (C_{totale}). La concentration libre (C_{libre}), qui est le produit de la fraction libre et de la concentration totale restera sensiblement inchangée en présumant que la clairance intrinsèque reste inchangée (Figure 19) :

$$C_{libre} = f_{libre} \cdot C_{totale} = \uparrow f_{libre} \cdot \downarrow C_{totale} = \leftrightarrow C_{libre}$$

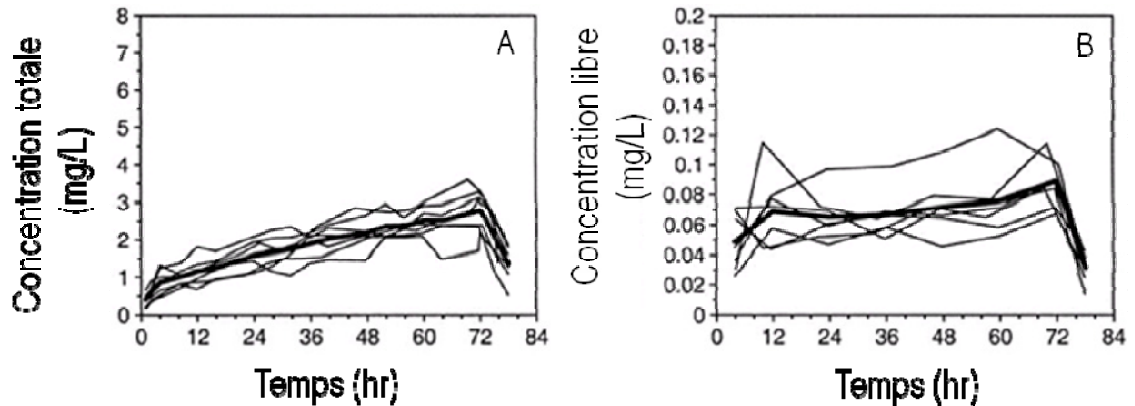


Figure 19 Concentrations plasmatiques totales (A) et libres (B) de ropivacaïne chez des patients orthopédiques ($n = 12$) ayant reçu une perfusion continue (10 mL/h) de ropivacaïne 2 mg/mL par voie périurale pendant 72 h. *Adaptée avec permission de Burm et al.*⁵⁵

La constante de vitesse d'élimination (k , qui a pour unité la réciproque du temps (min^{-1} , h^{-1}), reflète la capacité de l'organisme à éliminer une substance. Elle dépend donc à la fois du volume de distribution et de la clairance, étant définie par le rapport . Le temps nécessaire pour éliminer 50 % de la dose administrée d'une substance donnée correspond à la *demi-vie d'élimination* (, qui est un paramètre propre à la molécule considérée (Tableau III), mais qui peut également varier dans certaines conditions physiologiques. Ainsi, la demi-vie d'élimination de la lidocaïne augmente chez le sujet âgé, en raison de l'augmentation du volume de distribution de cet anesthésique local avec l'âge.^{56,57} À l'inverse, une diminution concomitante et proportionnelle de la clairance et du volume de distribution n'entraînera aucune variation de la demi-vie. C'est le cas pour la bupivacaïne, plus particulièrement lorsque celle-ci est administrée par voie périurale.⁵⁸

Tableau III Principaux paramètres pharmacocinétiques moyens décrivant le devenir systémique de certains anesthésiques locaux de type aminoamide.

Paramètres	Prilocaine	Lidocaïne	Mepivacaïne	Ropivacaïne	Bupivacaïne
f_{libre}	0.45	0.30	0.20	0.05	0.05
V_{ss} (L)	191	91	84	61	73
Vu_{ss} (L)	445	253	382	742	1028
Cl (L/min)	2.37	0.95	0.78	0.73	0.58
E_H	0.95	0.65	0.52	0.49	0.38
$T_{1/2\beta}$ (h)	1.6	1.6	1.9	1.9	2.7

f_{libre} = fraction libre du principe actif dans le sang; V_{ss} = Volume de distribution apparent à l'état d'équilibre; Vu_{ss} = Volume de distribution apparent de la fraction libre à l'état pseudo-équilibre; Cl = Clairance totale du corps; E_H = Coefficient d'extraction hépatique; $T_{1/2\beta}$ = Demi-vie d'élimination « terminale ». *Données obtenues dans Tucker et al.,³⁷ Simon et al.,⁵⁹ Arthur et al.⁶⁰ ainsi que Lee et al.⁶¹*

1.3 Pharmacologie clinique des anesthésiques locaux

Comme nous pouvons le voir dans le tableau suivant (Tableau IV), les anesthésiques locaux utilisés en clinique pour les techniques d'infiltration, de blocs nerveux périphériques ainsi que pour l'anesthésie péridurale et rachidienne (*spinale*) peuvent être divisés en trois classes:

- les agents de *courte* durée d'action, tels que la procaine et la chlorprocaine;
- les agents de durée d'action *intermédiaire*, tels que la lidocaïne et la prilocaïne et, finalement;
- les agents de *longue* durée d'action, tels que la ropivacaïne et la bupivacaïne.

Ces anesthésiques locaux varient également en terme de *début* d'action : la chlorprocaine, la lidocaïne et la prilocaïne ont un début d'action rapide alors que la tétracaïne, la ropivacaïne ainsi que la bupivacaïne ont une période de latence beaucoup plus longue.

Tableau IV Propriétés pharmacodynamiques de certains anesthésiques locaux

Agent	Concentration utilisée (%)	Utilisations cliniques	Début d'action	Durée d'action (h)
<i>Aminoamides</i>				
Lidocaïne	0.5 – 1.0	Infiltration	Rapide	1.0 – 2.0
	1.0 – 1.5	Plexus	Rapide	1.0 – 3.0
	1.5 – 2.0	Péridurale	Rapide	1.0 – 2.0
	4.0	Topique	Intermédiaire	0.5 – 1.5
	2.0 – 5.0	Spinale	Rapide	1.0 – 2.0
Prilocaine	0.5 – 1.0	Infiltration	Rapide	1.0 – 2.0
	1.5 – 2.0	Plexus	Rapide	1.5 – 3.0
	2.0 – 3.0	Péridurale	Rapide	1.0 – 3.0
Bupivacaine	0.25	Infiltration	Rapide	2.0 – 4.0
	0.25 – 0.5	Plexus	Lent	4.0 – 12.0
	0.06 – 0.25	Péridurale	Intermédiaire	2.0 – 4.0
	0.5 – 0.75	Péridurale	Intermédiaire	2.0 – 5.0
	0.5 – 0.75	Spinale	Rapide	2.0 – 4.0
Ropivacaine	0.2	Infiltration	Rapide	2.0 – 4.0
	0.375 – 0.75	Plexus	Lent	4.0 – 12.0
	0.2	Péridurale	-	-
<i>Aminoesters</i>				
Procaïne	1.0	Infiltration	Rapide	3.0 – 6.0
	1.0 – 2.0	Plexus	Lent	3.0 – 6.0
	2.0	Péridurale	Lent	3.0 – 6.0
	10.0	Spinale	Rapide	3.0 – 6.0
Tétracaïne	0.5	Spinale	Rapide	2.0 – 4.0
	2.0	Topique	Intermédiaire	3.0 – 6.0

Adapté avec permission de Butterworth et al⁶²

1.3.1 Méthodes d'évaluation du bloc sensitif

L'évaluation du bloc sensitif est une pratique courante en anesthésie locorégionale. Cette démarche représente une étape fondamentale puisqu'elle permet, notamment, d'évaluer si le patient est prêt à passer sous le bistouri. Le défi du clinicien est alors de mesurer une expérience subjective, i.e. la douleur, avec une méthode objective. Malheureusement, il n'existe pas à ce jour, de méthode clinique permettant de prédire avec certitude si un bloc va se révéler suffisamment efficace en péri-opératoire.⁶³ De fait, les outils d'évaluation généralement utilisés en clinique (stimuli non standardisés visant les sensations de toucher, de piqûre ou de froid) ne reproduisent qu'en partie le phénomène complexe de la douleur et ne fournissent que des données de nature qualitative et par conséquent, plutôt grossières. Il devient impératif de disposer d'un outil apte à fournir une information quantitative sur le blocage des différentes fibres sensorielles (A δ , A β ou C ; Tableau I) à partir d'une méthode de stimulation du système sensoriel « input » capable d'entraîner, en retour, une réponse « output » mesurable. Parmi les méthodes de stimulation des voies sensorielles, on retrouve celles qui utilisent des stimuli mécaniques, thermiques (chaud ou froid), chimiques, ou électriques. Ces stimuli sont activateurs de différents types de fibres sensorielles (Figure 11), mais de fait, aucun stimulus n'est strictement spécifique d'un seul type de fibre.

Les méthodes d'évaluation de la réponse du système sensoriel « output » peuvent être regroupées en deux grandes catégories, i.e. qualitatives et/ou quantitatives. Dans la première catégorie, le sujet évalue la douleur en se contentant de noter si celle-ci est présente ou non (« oui/non », « mal/pas mal »). L'intérêt principal de ces méthodes qualitatives réside dans leur facilité d'interprétation, mais leur limitation majeure tient également de cette catégorisation qui fait que des réponses quantitativement différentes se retrouvent inévitablement classées dans la même catégorie. Les méthodes de mesures quantitatives, quant à elles, emploient habituellement des réponses qui sont graduées sur des échelles numériques. Parmi les techniques les plus intéressantes, on retrouve celles où l'évaluateur augmente l'intensité d'un stimulus nociceptif de manière progressive jusqu'à ce que la réponse souhaitée soit obtenue. On peut alors définir avec précision l'intensité correspondant à la réponse recherchée.

Il existe un appareil qui permet d'évaluer de manière quantitative le seuil de perception sensorielle (CPT) du patient. L'appareil en question, le Neuromètre © (Figure 20),⁶⁴ emploie un stimulus électrique sinusoïdal continu (0 – 10 mA) permettant l'utilisation de différentes fréquences (2000Hz, 250Hz et 5Hz) capables de stimuler spécifiquement les fibres A δ , A β et C, respectivement.



Figure 20 Le neuromètre. Appareil diagnostique capable d'émettre un stimulus électrique sinusoïdale continue transcutanée et à fréquences variables qui sont reconnues pour être neurospécifiques envers les fibres sensorielles.

Ce stimulateur nerveux transcutané est surtout utilisé à des fins diagnostiques (diabète, neuropathie), mais certaines études ont démontré que le CPT permet d'évaluer de manière quantitative l'évolution spatio-temporelle de la composante sensitive du bloc associé à la lidocaïne après anesthésie rachidienne et péridurale.^{65,66} De plus, le CPT ne serait pas influencé par l'effet sédatif des opiacés administrées chez les patients subissant une chirurgie orthopédiques.

1.3.2 Début d'action

Pour une même voie d'administration, un début d'action plus rapide serait observé pour les agents plutôt lipophiles. Il existerait également une relation inversement proportionnelle entre le pourcentage de la forme ionisée et le début d'action de ces

agents.⁶⁷ Puisque les anesthésiques locaux sont tous des bases faibles, seule la forme base (non ionisée) est susceptible de franchir la membrane cellulaire. Ainsi, lorsque le pKa de l'agent est plus près du pH physiologique (7.32 à 7.40), une proportion plus importante de l'anesthésique local se trouve sous forme non ionisée, d'où un début d'action rapide. À l'inverse, plus le pKa de l'agent est élevé, plus la proportion de forme ionisée est grande et plus lent est le début d'action. La lidocaïne (pKa ~ 7.7), par exemple, a un début d'action beaucoup plus rapide que la bupivacaïne (pKa ~ 8.1) qui, à pH physiologique, possède environ 2 fois moins de molécules sous forme non ionisée (15 % vs 30 à 35 %, respectivement). Il n'en demeure pas moins que malgré ces données, la validité de cette règle est aujourd'hui très controversée.⁶⁷ Par exemple, prenons la chloroprocaine qui, malgré un pKa relativement élevé (pKa ~ 9.1), possède un début d'action plus rapide que la tétracaïne (pKa ~ 8.4). D'autres facteurs comme la dose, qui influe sur le gradient de concentration du médicament, ainsi que sa voie d'administration pourraient être à l'origine des variations observées au niveau du début d'action de certains anesthésiques locaux.

1.3.3 Durée d'action

La durée d'action varie en fonction de la nature de l'anesthésique local (aminoamide ou aminoester) et de la voie d'administration. Elle est conditionnée par divers facteurs, dont la vitesse de dissociation de l'agent, son pourcentage de liaison protéique ainsi que sa solubilité lipidique (Tableau II). Un anesthésique local relativement lipophile aura, en effet, tendance à demeurer dans l'espace péridural ce qui, parallèlement à l'augmentation du temps de contact avec l'axoplasme, prolongera son effet anesthésiant. Par exemple, la bupivacaïne a une longue durée d'action (Tableau IV) attribuable à sa lipophilicité et son pourcentage de liaison aux protéines élevés. Il importe également de noter que la vitesse de résorption vasculaire de l'anesthésique local influe sur sa durée d'action. Ce paramètre dépend du site d'injection et des propriétés vasoactives intrinsèques de l'agent et d'éventuels adjuvants (comme l'épinéphrine). Par exemple, la ropivacaïne doit sa durée d'action prolongée, superposable à celle de la bupivacaïne, à son effet vasoconstricteur qui diminue le flux sanguin local.⁶⁸

1.3.4 Puissance

La puissance d'un anesthésique local, indissociable de sa toxicité potentielle (prochaine section), est étroitement corrélée à sa solubilité lipidique (Figure 21). Ainsi, la procaine, avec un coefficient de partage octanol/eau d'environ 100 ($\log P \sim 2$), nécessite des concentrations deux fois plus importantes que la bupivacaïne pour engendrer un blocage nerveux du même type (Tableau IV). Cette corrélation, déterminée sur des préparations de nerf isolé, n'est cependant pas toujours extrapolable à la pratique clinique. L'étidocaïne, par exemple, est plus puissante *in vitro* que la bupivacaïne, alors que l'inverse se vérifie *in vivo*.⁶⁹ Cette discordance résulte d'un certain nombre de facteurs qu'on rencontre *in vivo* dont les plus importants sont les propriétés vasoactives intrinsèques de l'anesthésique local et sa lipophilicité qui, lorsqu'élevée, résulte en une distribution importante et rapide dans le tissu adipeux adjacent au site d'injection.

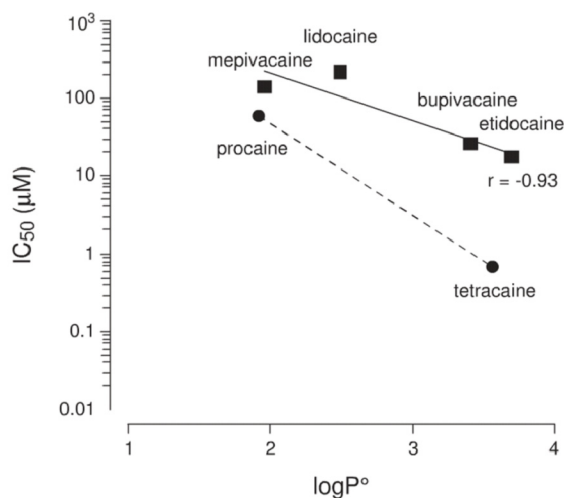


Figure 21 Corrélation inversement proportionnelle entre la puissance (*in vitro*) d'un anesthésique local (IC_{50}) et sa solubilité lipidique (coefficient de partage octanol/eau; $\log P$). Le coefficient de corrélation est de -0.71 pour l'ensemble des anesthésiques locaux (non représenté) alors qu'il est de -0.93 pour les aminoamides représentés dans la présente figure (mépivacaïne, lidocaïne, bupivacaïne et étidocaïne). *Adaptée avec permission de Brau et al.*⁷⁰

1.4 Toxicité des anesthésiques locaux

Vers la fin des années 70, la bupivacaïne a fait l'objet d'une attention particulière lorsqu'un éditorial a rapporté qu'elle était particulièrement susceptible de causer une toxicité cardiovasculaire lorsqu'il y avait une injection intraveineuse accidentelle ou surdosage.⁷¹ Bien qu'une part non négligeable des accidents graves soit liée à des problèmes techniques, l'anesthésie locorégionale possède également un risque propre à l'agent utilisé. Ainsi, le risque de troubles neurologiques transitoires après rachianesthésie semble plus élevé avec la lidocaïne.⁷² Parmi les autres options thérapeutiques qui peuvent se substituer à la bupivacaïne lorsque l'utilisation d'un anesthésique à longue durée d'action est souhaitable, on retrouve la lévo-bupivacaïne ou encore la ropivacaïne qui s'avèrent moins cardiotoxiques que la bupivacaïne tout en présentant un faible risque de neurotoxicité.⁷³ Néanmoins, ces agents ne sont pas exempts de tout potentiel de toxicité, comme en témoignent de nombreux rapports cliniques.⁷⁴

1.4.1 Toxicité locale

Les anesthésiques locaux de type aminoamide ont un effet myotoxique et neurotoxique, lorsqu'employés à fortes concentrations. L'effet neurotoxique est incriminé dans la genèse des arachnoïdites adhésives responsables du redoutable syndrome de la *queue de cheval*.⁷⁵ L'incidence serait plus élevée après rachianesthésie continue utilisant des microcathéters.⁷⁶ Ces derniers ne sont d'ailleurs plus sur le marché dans la plupart des pays où ils avaient été commercialisés. Cette neurotoxicité semble attribuable non seulement à une concentration élevée de la solution injectée, mais aussi à la toxicité intrinsèque de l'anesthésique local, plus particulièrement la lidocaïne. La bupivacaïne, quant à elle, ne semble pas provoquer de lésions histologiques de neurotoxicité, et ce, même aux concentrations les plus élevées utilisées en clinique (0.75 %).⁷⁷ En revanche, quelques rares cas ont été décrits avec la mépivacaïne. La présence d'adrénaline dans la solution injectée, pourrait également être un facteur additionnel de toxicité.⁷⁸

En dehors de ces accidents relativement rares, mais dramatiques que sont les lésions neurologiques étendues et permanentes, on a rapporté des cas de déficit neurologique

transitoire après utilisation de lidocaïne 5 %.⁷⁹ Des cas ont également été observés avec la bupivacaïne, quoique beaucoup plus rarement.⁷² L'utilisation de solutions diluées, dans l'espoir de diminuer l'incidence de réactions adverses, ne semble avoir que peu d'influence en ce qui concerne la survenue des déficits neurologiques.⁸⁰ Parmi les problèmes transitoires associés aux anesthésiques locaux, on retrouve les irritations radiculaires transitoires post-injection rachidienne, lesquelles se manifestent par des douleurs débutant dans les fesses quelques heures suivant la levée du bloc. Ces douleurs irradient ensuite distalement et persistent de 1 à 4 jours après la rachianesthésie. Bien que l'étiologie précise demeure inconnue, il est possible qu'elles soient attribuables à une mauvaise répartition de l'anesthésique local, responsable d'une concentration neurotoxique au niveau des racines sacrées.⁸¹

Certains anesthésiques locaux, comme la bupivacaïne, sont myotoxiques lorsqu'injectés localement.⁸² Cette toxicité s'observe particulièrement au niveau des muscles oculaires⁸³, mais également au niveau des autres muscles de l'organisme. Les facteurs étiologiques en sont mal connus. Il pourrait s'agir d'un désordre d'ordre physiologique de l'homéostasie calcique, possiblement similaire à celui de l'hyperthermie maligne.^{84,85} L'injection intramusculaire de bupivacaïne est d'ailleurs un modèle valide de myopathie de Duchenne⁸⁶ qui, rappelons-le, se manifeste par une faiblesse musculaire progressive des membres et du tronc.

1.4.2 Toxicité systémique

Tel qu'énoncé précédemment, toute dose d'anesthésique local déposée dans l'espace périneural doit être absorbée dans la circulation systémique avant d'être métabolisée dans le foie pour être finalement éliminée par voie rénale. En fonction de la concentration systémique de l'agent, des manifestations toxiques peuvent survenir. De façon générale, la concentration d'anesthésique local susceptible de provoquer des effets systémiques est inversement proportionnelle à la puissance de l'agent utilisé (Figure 22).

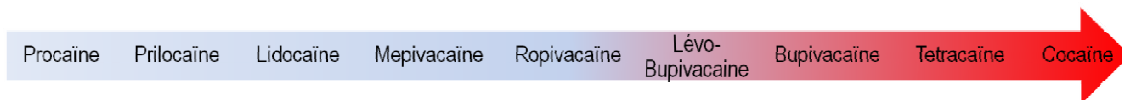


Figure 22 Augmentation du potentiel de toxicité systémique (de gauche à droite) en fonction de la puissance de l'agent.

Les anesthésiques locaux possèdent une toxicité systémique qui se manifeste d'abord au niveau du système nerveux central puis, à des concentrations supratherapeutiques, ils deviennent cardiotoxiques. Tel n'est cependant pas le cas de la bupivacaïne et de l'étidocaïne qui peuvent s'avérer cardiotoxiques avant toute manifestation neurologique, en particulier chez l'enfant. Les premiers signes d'intoxication neurologiques, mineurs et inconstants, sont une somnolence, des céphalées, des étourdissements ou vertige, des acouphènes, un goût métallique et des paresthésies péri-buccales. Cette symptomatologie, qui peut être masquée par une l'administration concomitante de benzodiazépine, précède généralement la crise convulsive. Ultimement, en l'absence de traitement et à des concentrations très élevées, un coma apparaît avec dépression cardiorespiratoire et toxicité myocardique.

La cardiotoxicité des anesthésiques est surtout liée au ralentissement des vitesses de conduction auriculaire et ventriculaire.^{87,88} Ce ralentissement est responsable non seulement des bradycardies, mais également des tachycardies supraventriculaires et/ou ventriculaires. L'altération des vitesses de conduction obéit au principe du bloc phasique (Figure 9, section 1.1.3), par opposition au bloc tonique, où la toxicité de l'agent augmente de façon proportionnelle à la fréquence cardiaque.⁸⁹ Ainsi, les anesthésiques locaux, tout particulièrement la bupivacaïne, diminuent la vitesse de conduction ventriculaire sans pour autant augmenter la période réfractaire.^{88,90} En plus de ce ralentissement de la conduction, la bupivacaïne exerce un effet inotrope négatif.⁹¹ Plusieurs mécanismes concourent à cette altération mécanique, dont la baisse de la fréquence cardiaque ainsi que l'effet anticalcique sur la membrane et/ou sur le réticulum sarcoplasmique.⁹² Toutefois, la dépression de la contractilité cardiaque ne survient généralement qu'à des niveaux 5 à 10 fois supérieurs à ceux qui entraînent des troubles

de conduction. L'injection lente et fractionnée a vraisemblablement permis de réduire l'incidence de ce type de réaction.

1.4.3 Réactions allergiques et autres

Les réactions allergiques sont essentiellement le fait des aminoesters ayant un noyau para-aminobenzoïque, en l'occurrence; la procaine, la chlorprocaine et la tétracaïne. Ces anesthésiques locaux sont plus susceptibles d'induire une réaction d'allergie croisée avec certains agents conservateurs, tels que les parabènes et les bisulfites présents dans certaines solutions médicamenteuses. Les symptômes classiques sont les suivants : érythème urticarien, prurit, bronchospasme, œdème de Quincke et choc anaphylactique.

Il existe également une complication plutôt rare, la méthémoglobinémie, qui se manifeste plus particulièrement chez les enfants de moins d'un an. L'agent responsable est l'ortho-toluidine, un métabolite de la prilocaïne, qui oxyde l'hémoglobine en méthémoglobine.⁹³ Les nourrissons ont, en effet un taux plus faible de méthémoglobine-réductase⁹⁴, expliquant du même coup la restriction de l'utilisation de EMLA® (contient de la prilocaïne) chez les enfants prédisposés. Lorsque la concentration de méthémoglobine dépasse de plus de 30 % l'hémoglobine totale, des symptômes cliniques tels que des tachycardies, céphalées, vertiges ainsi qu'une hypoxie apparaissent. Le traitement repose sur des injections intraveineuses de bleu de méthylène qui transforme la méthémoglobine en hémoglobine.

Épilogue

En résumé, les propriétés pharmacodynamiques des anesthésiques locaux affectent non seulement leurs utilisations cliniques, mais également leur toxicité potentielle. Parmi les caractéristiques les plus importantes, on retrouve la puissance ainsi que le début et la durée d'action. Ces particularités sont étroitement corrélées aux propriétés physicochimiques des différents anesthésiques locaux commercialement disponibles.

Bien que les propriétés pharmacologiques inhérentes aux différents anesthésiques locaux déterminent largement leur profil anesthésiant, d'autres facteurs pourraient également influencer la qualité de l'anesthésie locorégionale, incluant : la dose utilisée, la présence d'agent vasoconstricteur, le site d'administration ainsi que les facteurs physiologiques propres à chaque individu.

Dans le prochain chapitre, nous allons voir comment la modélisation pharmacocinétique-pharmacodynamique pourrait non seulement permettre d'expliquer les variations interindividuelles observées pour un anesthésique local donné, mais également d'identifier un régime posologique optimal adapté au site d'administration de l'agent ainsi qu'à l'intensité et à la durée de l'acte chirurgical.

CHAPITRE 2: Modélisation pharmacocinétique-pharmacodynamique des anesthésiques locaux

De façon générale, la modélisation pharmacocinétique-pharmacodynamique (PK-PD) a pour objectif de développer et d'appliquer des modèles mathématiques permettant de décrire et/ou prédire l'évolution spatio-temporelle de l'effet pharmacodynamique en fonction des concentrations plasmatiques et/ou tissulaires du médicament. Ultiment, l'intégration des résultats de l'analyse PK-PD permet de déterminer la concentration minimale efficace à utiliser pour ainsi optimiser l'efficacité et la sécurité du médicament.

La modélisation PK-PD a connu un essor important, notamment dans les années 1980, en réponse à l'introduction de *l'analyse populationnelle* par Sheiner et Beal.⁹⁵⁻⁹⁹ Comparativement à l'approche dite « *classique* » (section 2.1), l'analyse populationnelle (section 2.2) permet de quantifier les différents niveaux de variabilité et d'en expliquer les sources les plus probantes. Le bénéfice potentiel d'une telle approche est l'identification de facteurs (*covariables*) pouvant expliquer cette variabilité de façon à rationaliser l'utilisation du médicament en fonction des particularités propres à chaque individu. De nombreuses contributions significatives ont d'ailleurs été réalisées par des cliniciens ayant étudié la relation PK-PD des agents anesthésiants.¹⁰⁰ À l'instar de la modélisation PK-PD, l'anesthésiste est particulièrement intéressé à connaître et prédire avec précision l'évolution spatio-temporelle de l'effet pharmacologique.

Dans ce chapitre, nous allons revoir les principes de modélisation PK-PD dits classiques pour ensuite expliquer les particularités inhérentes à l'approche populationnelle. Une attention particulière sera portée sur l'analyse de population; approche utilisée pour modéliser la vaste majorité des résultats obtenus durant mes travaux de recherche.

2.1 L'approche classique

2.1.1 Principe de modélisation

Classiquement, la modélisation pharmacocinétique repose sur une approche dite *compartimentale*. Un compartiment se définit comme un espace, qu'il soit virtuel ou possédant une réalité anatomique, dans lequel un principe actif est distribué de façon homogène. Les tissus hautement perfusés tels le foie, les reins et les poumons sont généralement considérés comme formant un seul compartiment (le *compartiment central*) en équilibre avec la circulation systémique. Le nombre de compartiments et leur enchaînement les uns par rapport aux autres sont choisis de façon à pouvoir s'adapter aux phénomènes observés. Ainsi, les compartiments périphériques représentent les tissus plus faiblement perfusés, comme les tissus adipeux, les muscles et la peau. Les échanges ou transferts entre les différents compartiments peuvent être représentés par des processus physiologiques d'ordre 1 (diffusion passive), d'ordre 0 (transport actif à vitesse constante) ou non linéaire (d'ordre 1 et 0). Ces échanges sont régis par un système d'équations différentielles symbolisé par des constantes de transfert ou microconstantes (k_{xx}).¹⁰¹ La résolution analytique d'un tel système permet de décrire mathématiquement l'évolution des concentrations plasmatiques (C_p) du médicament en fonction du temps. Ainsi, dans le cas d'un modèle bicompartimental avec administration intraveineuse (Figure 23), l'expression intégrée (résolue) s'écrit selon :

$$\hat{C}_p = A \cdot e^{-\alpha t} + B \cdot e^{-\beta t}$$

où les coefficients A et B correspondent aux concentrations prédites (\hat{C}_p) dans le compartiment central au temps zéro pour les phases de distribution ($e^{-\alpha t}$) et d'élimination ($e^{-\beta t}$), respectivement. Les paramètres α et β définissent les estimés pour chacune de ces phases. Les paramètres A, B, α et β sont exprimés en fonction des constantes de transfert k_{12} , k_{21} , et de la constante de vitesse d'élimination k_{10} .¹⁰²

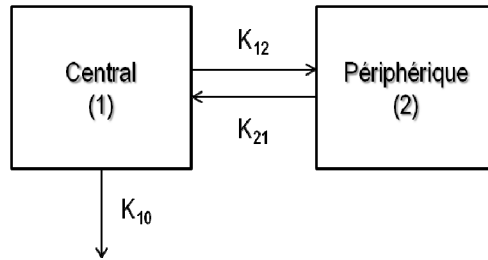


Figure 23 Représentation graphique d'un modèle pharmacocinétique à deux compartiments suivant l'administration d'un bolus intraveineux. Le schéma montre les vitesses de transfert du médicament entre les compartiments (K_{12} , K_{21}) et vers l'élimination (K_{10}).

La plupart des anesthésiques locaux à longue durée d'action possèdent une cinétique biexponentielle, mais à des degrés divers. Étant liposolubles, ces agents auront tendance à quitter le compartiment central (sang) suivant leur administration intraveineuse. Le coefficient de partage élevé de la bupivacaïne explique son grand $V_{du_{ss}}$ (1028 L, Tableau III) en comparaison avec d'autres anesthésiques locaux à plus faible durée d'action comme la lidocaïne par exemple ($V_{du_{ss}} = 256$ L).

Au site d'action, la molécule se lie au(x) récepteur(s) selon son affinité et entraînera, via des mécanismes de signalisation intracellulaire, un effet pharmacologique. L'interaction entre le médicament et son site d'action implique une reconnaissance mutuelle des deux protagonistes qui obéit, *in vitro*, à la loi d'action de masse :

où $[L]$ est la concentration du ligand (médicament), $[R]$ est la concentration de récepteur libre et $[RL]$ est la concentration du récepteur occupé. La constante de dissociation (K_D):

$$K_D = \frac{[L][R]}{[RL]}$$

traduit l'affinité du ligand pour le récepteur. Elle correspond à la concentration de ligand nécessaire à l'occupation de 50 % des récepteurs. L'affinité du ligand est donc inversement proportionnelle à la valeur de K_D . La loi d'action de masse, qui représente

la liaison d'un ligand à son récepteur au niveau biochimique, est la même au niveau macroscopique (en assumant que l'effet est proportionnel à la concentration de récepteurs occupés):

$$Effet = \frac{Emax \cdot C}{EC_{50} + C}$$

Ainsi, C est la concentration plasmatique du médicament alors que EC_{50} est la concentration de médicament dans la *biophase* (espace biologique dans lequel un médicament exerce son action) qui conduit à 50 % de l'effet maximum possible ($Emax$). La réponse maximale obtenue pour un effet pharmacologique varie d'un *agoniste* (médicament qui interagit avec un récepteur et produit une réponse) à un autre en fonction d'un facteur propre à chaque agoniste : *l'activité intrinsèque* (α):

$$\alpha = \frac{Emax_A}{Emax}$$

L'activité intrinsèque permet de connaître l'efficacité du complexe médicament-récepteur par rapport à un standard et ce, en comparant l'intensité obtenue avec le médicament A ($Emax_A$) par rapport à l'effet maximal possible ($Emax$).

L'effet pharmacologique se mesure *in vivo* pour des doses croissantes du médicament. La courbe dose-réponse ainsi formée peut être transformée en une sigmoïde en utilisant des coordonnées semi-logarithmiques (Figure 24).

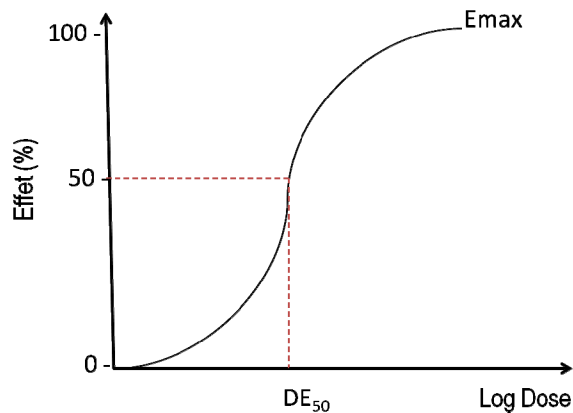


Figure 24 Courbe dose-réponse permettant de décrire un effet pharmacologique. La ED_{50} correspond à la dose requise de médicament pour produire 50 % de l'efficacité maximale (E_{max}).

L'effet mesuré peut être exprimé en valeur absolue ou en pourcentage de l'effet maximum. La dose requise pour produire 50 % de E_{max} (ED_{50}) permet de déterminer la puissance du médicament (section 1.3.1). Les courbes dose-réponse de deux médicaments ayant un même mécanisme d'action et un effet maximal similaire seront parallèles peuvent ainsi être comparées. Un médicament sera d'autant plus puissant que la dose nécessaire pour produire un effet donné (ex. ED_{50}) est faible. Donc, la puissance est fonction de l'affinité (K_D) et des facteurs modifiant la concentration au site d'action, soit l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination (ADME). Pour modéliser les variations de l'effet du médicament en fonction de ses concentrations, on utilisera un modèle PK-PD (Figure 25).

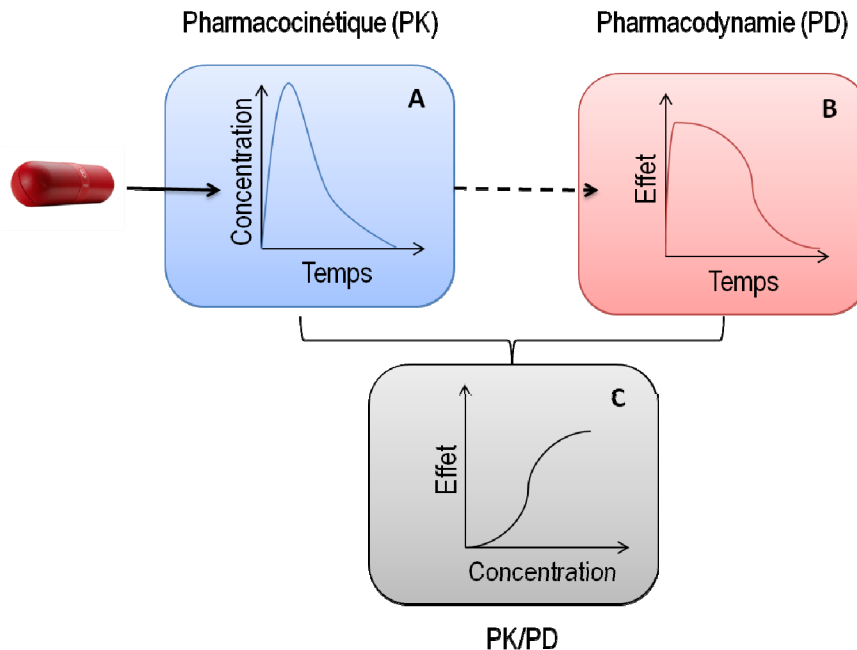


Figure 25 Relation dose, concentration, effet d'un médicament. **A** : Après administration extravasculaire, les molécules se distribuent dans les compartiments de l'organisme. **B** : L'effet apparaît, atteint un plateau et disparaît en fonction du temps. **C** : La relation entre l'effet et les concentrations du médicament, de forme sigmoïdale dans ce cas-ci.

Le lien entre la partie PK et la partie PD est représenté par l'accès au récepteur (débit sanguin) et la cascade d'événements au niveau du récepteur (affinité, transduction etc.). Certains médicaments, comme les anesthésiques locaux, ont un site d'action particulièrement difficile d'accès. Il en résulte un délai d'apparition entre le pic de la concentration plasmatique et le pic d'action pharmacologique (hystérèse; Figure 26). L'accès à la biophase est d'autant plus lent que la molécule est hydrosoluble. Ainsi, la levo-bupivacaïne, l'isomère lévogyre de la bupivacaïne, produit un effet maximal approximativement 15 min après son administration par voie périurale, alors que la ropivacaïne, beaucoup plus hydrophile, nécessite 2 fois plus de temps (25 min) pour engendrer un effet anesthésiant de même amplitude.¹⁰³ Le paramètre qui permet de caractériser ce phénomène est le $T_{1/2ke0}$; $ke0$ étant la constante d'équilibre entre le

compartiment effet et le plasma.⁹⁹ D'autres approches, comme l'utilisation de modèles indirects,¹⁰⁴ permettent également de tenir compte du délai d'apparition de l'effet.

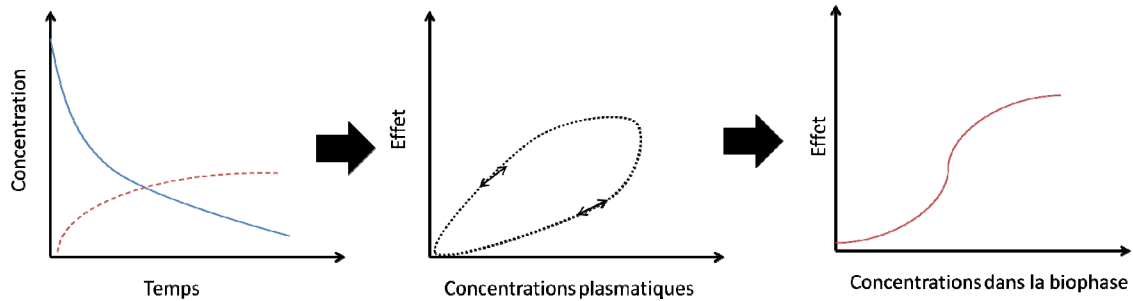


Figure 26 Illustration du délai d'action pharmacologique. À gauche, concentration du médicament dans le plasma (C_p , en bleu continu) et dans la biophase (C_e , en rouge pointillé). Au milieu, courbe d'hystérèse représentant le délai d'apparition (sens anti-horaire) de l'effet en fonction des concentrations plasmatiques. À droite, collapsus de l'hystérèse ou minimisation de l'hystérèse suivant l'ajout d'un compartiment effet (ke_0).

2.1.2 Estimation des paramètres

Les paramètres pharmacocinétiques et/ou pharmacodynamiques d'un modèle sont estimés par régression non linéaire sur la base des mesures (concentration ou effet) obtenues pour chaque patient (i) à différents temps (j). Par exemple, dans le cas d'un modèle à un compartiment avec administration intraveineuse, on tentera d'estimer les paramètres de k_{10} et de Vd de manière à minimiser la différence entre les valeurs observées et celles prédites par le modèle étudié :

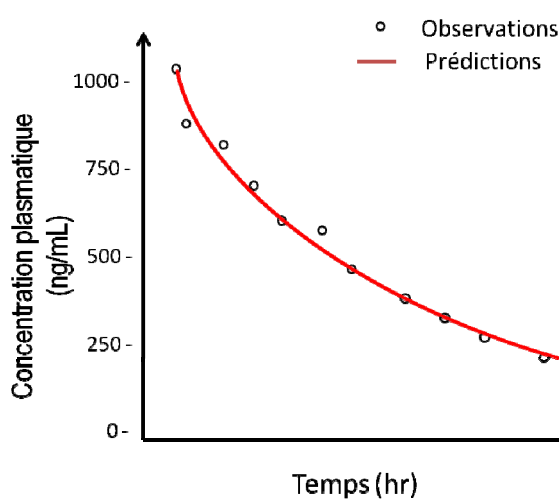


Figure 27 Évolution temporelle des concentrations plasmatiques observées (°) et prédites (ligne rouge) par le modèle pharmacocinétique :

La somme (Σ) de ces différences exprimée à la puissance carré, i.e. la différence entre les valeurs observées (*obs*) et prédites (*pred*) pour un individu *i* et un temps *j*, correspond aux moindres carrés ou fonction objective (OF) :

$$OF = \sum_{j=1}^n (obs_{ij} - pred_{ij})^2$$

Des méthodes de minimisation de la fonction objective telles que celle des moindres carrés ordinaires (*Ordinary Least Squares, OLS*), des moindres carrés pondérés (*Weighted Least Squares, WLS*), ou des moindres carrés généralisés (*Generalized Least Squares, GLS*) ainsi que le critère de vraisemblance maximum (*Maximum Likelihood ou ELS*) permettent de déterminer quel est le meilleur ajustement possible du modèle étudié.¹⁰⁵ Le choix du modèle final repose sur des considérations visuelles¹⁰⁶ et statistiques¹⁰⁷ telles que :

- l'analyse des *résidus* (erreur que le modèle ne peut expliquer) qui est importante pour valider la structure du modèle (un ou deux compartiments, par exemple) et le choix des poids ($1/obs$ ou $1/pred$, par exemple)
- l'analyse du coefficient de variation des paramètres qui permet d'évaluer la précision
- la matrice de corrélation entre les paramètres
- le nombre de conditionnement qui est une mesure de stabilité du modèle
- test de F pour les modèles hiérarchiques (un *vs* deux compartiments, par exemple) qui aide à la sélection du meilleur modèle
- le critère d'Akaike qui permet de comparer deux modèles non hiérarchiques

Les paramètres PK ou PD ainsi obtenus par le modèle final pour chaque individu serviront à calculer des statistiques descriptives (moyenne, variance) qui permettent, notamment, de prédire l'impact d'un changement de dose sur certains paramètres. Cette approche en deux étapes (« two-stage approach») est particulièrement intéressante dans les études de Phase I où un nombre important de mesures pour chacun des individus est

obtenu. Cependant pour analyser les études de Phase II ou III, cette approche présente plusieurs inconvénients. Avant tout, elle requiert d'avoir au moins autant d'observations individuelles que de variables PK et/ou PD. De plus, la méthode en deux étapes ne permet pas de distinguer les variabilités inter- et intra-individuelles. Pour ce faire, on utilisera les modèles non-linéaires à *effets mixtes* (voir section 2.2.2)

2.2 Analyse par approche populationnelle

2.2.1 Principe et application

La principale différence entre l'approche individuelle (classique) et populationnelle réside dans la façon d'estimer les paramètres. Contrairement à l'analyse individuelle, l'approche populationnelle permet d'analyser globalement les données obtenues (souvent éparées) sur un ensemble d'individus, sans différencier chacun des sujets, en tenant compte des différents niveaux de variabilité. Cette variabilité, qu'on tente d'expliquer par l'ajout de covariables (âge, sexe, poids, ...) peut être de nature interindividuelle ou résiduelle. Ainsi, pour décrire la concentration (ou l'effet) Y_{ij} mesurée chez un individu i à un temps j , on utilise le modèle suivant :

$$Y_{ij} = f(X_{ij}, \theta + \eta_i) + \varepsilon_{ij}$$

Où f représente la fonction non linéaire du modèle compartimental, X_{ij} représente les facteurs fixes (dose, temps, matrice de covariables), θ représente le vecteur des paramètres typiques de la population, η_i correspond au vecteur d'effets aléatoires qui quantifie l'écart entre un paramètre typique de population et celui d'un individu et ε_{ij} est la variabilité résiduelle quantifiant l'écart entre la valeur prédite par le modèle et la valeur observée pour un individu donné. De façon générale, on suppose que η_i suit une distribution normale (N) de centre zéro (0) avec une variance (ω^2) ($\eta_i \sim N(0, \omega^2)$) alors que ε_{ij} suit une distribution normale de centre zéro avec une variance (σ^2) ($\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$). La figure suivante (figure 28) résume l'ensemble de ces concepts.

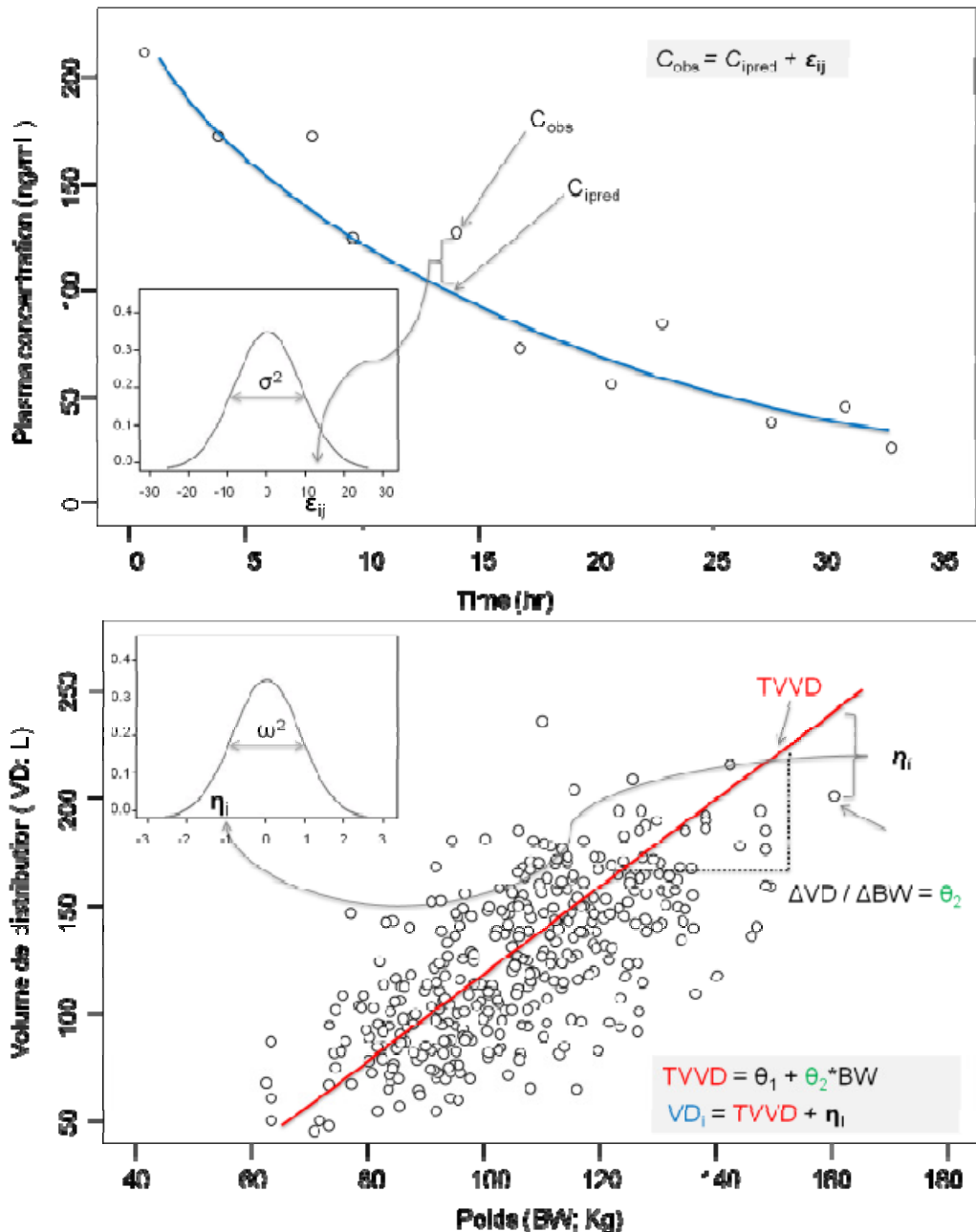


Figure 28 Illustrations graphiques de la variabilité inter- et intra-individuelle (résiduelle). En haut : C_{obs} représente la valeur observée pour un individu i au temps j . La différence entre C_{obs} et la concentration prédite par le modèle (C_{ipred}) est quantifiée par $\epsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$. En bas: TVVD représente la valeur typique du volume de distribution pour la population qui, dans cet exemple, varie de façon proportionnelle (θ_2) avec le poids (BW). L'écart entre TVVD et le VD calculé pour un individu (VD_i) est représenté par $\eta_i \sim N(0, \omega^2)$.

2.2.2 Estimation des paramètres

La régression non linéaire à effet mixte est la technique de choix lors de l'analyse de population, car elle permet d'estimer à la fois la composante fixe (paramètres de population θ) et la composante aléatoire (variabilité intra- et inter-individuelle). D'autres approches sont également possibles, comme l'approche de la moyenne naïve des données (*Naive average data approach, NAD*), qui consiste à calculer un profil moyen des observations au cours de la variable indépendante (temps) pour créer un individu « moyen », ou l'approche de regroupement des données (*Naive pooling data, NPD*), qui regroupe les données de tous les individus pour n'en faire qu'un seul. Ces approches sont cependant limitées du fait qu'elles ne peuvent distinguer la composante inter-individuelle de l'erreur résiduelle (intra-individuelle) qui devient ainsi surestimée.

Pour estimer les paramètres fixes (θ) et aléatoires (Ω : matrice de covariance des ω^2 et Σ : matrice de covariance des σ^2), la régression non linéaire à effet mixte fait appel au maximum de vraisemblance (Figure 29) :

$$L_i(Y_i|x_i, \theta, C_i) = \sum_{j=1}^{n_i} \left[(y_j - f(x_j, \theta))^T C_i^{-1} (y_j - f(x_j, \theta)) \right] + \log(\det C_i)$$

Où C_i correspond à la matrice de variance covariance individuelle :

$$C_i = G_i \Omega G_i^T + H_i \Sigma H_i^T$$

G_i est la matrice des dérivés partielles de $f_{ij}(\theta, x_{ij})$ par rapport à η

H_i est la matrice des dérivés partielles de $f_{ij}(\theta, x_{ij})$ par rapport à ε

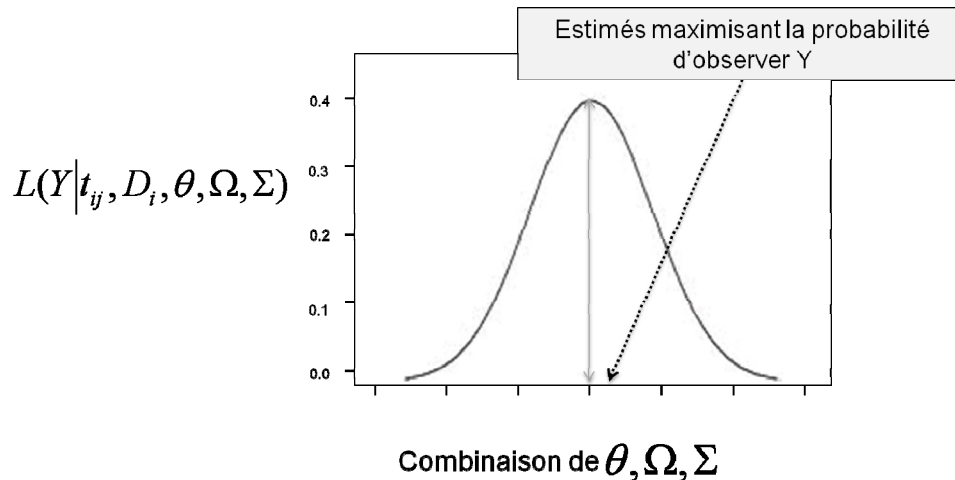


Figure 29 Maximum de vraisemblance. Estimation des valeurs des paramètres fixes (θ) et aléatoires (Ω et Σ) de population de manière à maximiser la probabilité (L : likelihood) d'observer Y (concentration ou effet) sachant ($|$) le temps (t_{ij}), la dose (D_i) et les effets mixtes.

Le calcul du maximum de vraisemblance est complexe et requiert l'utilisation d'approximations du système d'équations mathématiques. Les plus courantes reposent sur une approximation par linéarisation d'ordre 1 des effets aléatoires. Ces méthodes comme FO (*First-Order*), FOCE (*First-Order Conditional Estimate*) avec ou sans interaction (FOCE-I) et Laplacienne sont disponibles dans le logiciel NONMEM®,¹⁰⁸ l'outil de modélisation le plus couramment utilisé en pharmacométrie. La méthode FO est particulièrement rapide mais ne permet pas d'estimer la variabilité inter-individuelle ($\eta = 0$). Pour ce faire, on utilisera la méthode Laplacienne (dérivée de second-ordre) ou encore FOCE avec ou sans interaction. L'interaction est à utiliser quand on veut prendre en compte une interaction entre la variabilité intra- (ϵ) et inter-individuelle (η). D'autres méthodes d'estimation de la vraisemblance ont été développées plus récemment et constituent une bonne alternative au problème de convergence envisageable avec les méthodes d'approximation précédentes. Bien que généralement plus lentes, ces techniques, comme le SAEM®,¹⁰⁹ permettent de résoudre directement le système d'équations mathématiques. On les retrouve dans la version plus récente de NONMEM (VII et plus), mais aussi dans le logiciel Monolix®, qui est offert gratuitement pour les universitaires.

2.2.3 Ajout de covariable

L'étape suivant la conception du modèle structurel et statistique consiste en la recherche des relations pouvant exister entre les paramètres PK et/ou PD et les caractéristiques propres aux individus (âge, sexe, poids...). L'inclusion des covariables dans le modèle permet d'augmenter la performance prédictive du modèle, d'identifier les facteurs influençant la réponse du modèle et, par conséquent, confère un aspect physiopathologique ou mécanistique au modèle.¹¹⁰ Pour ce faire, on procède d'abord par une inspection visuelle de la relation entre les covariables et les paramètres individuels du modèle. Les covariables ayant une relation significative et physiologiquement possible sont ensuite testées pour inclusion dans le modèle. La méthode de sélection la plus couramment utilisée est la méthode d'ajouts par étape (« stepwise covariate modeling approach ») où les covariables sont ajoutées une à une et exclues si elles ne satisfont pas le critère d'inclusion/exclusion. On fixe habituellement ce critère à une valeur risque alpha de 5 % (inclusion) et 1 % (exclusion). D'autres méthodes de sélection de covariables sont également possibles comme le regroupement de variables,¹¹¹ l'application d'algorithmes génétiques¹¹² ou le « Lasso ».¹¹³

2.2.4 Validation du modèle final

Le choix du meilleur modèle se fait habituellement par le test du rapport de vraisemblance (LRT) qui permet de comparer, en termes de qualité d'ajustement aux données, les deux modèles en question (avec ou sans covariable(s)). Des valeurs p de 5% et 1% requièrent une diminution de 3.84 et 6.81 points de la fonction objective (ou - 2 x le log de la vraisemblance) suivant une loi χ^2 à un degré de liberté, respectivement. Une fois le modèle sélectionné, on évalue sa *stabilité* ainsi que son *pouvoir prédictif*. Le « bootstrap » est une technique statistique qui permet d'évaluer la stabilité du modèle¹¹⁴ ainsi que de déterminer la précision et les erreurs standards des paramètres.¹¹⁵ Elle consiste à ré-échantillonner au hasard, avec remplacement, les individus de la population et à ré-estimer les paramètres. On répète le processus plusieurs fois afin d'obtenir une distribution des paramètres. Si la médiane (ou moyenne) de la distribution est

compatible avec la valeur estimée initialement, le modèle est dit robuste aux variations aléatoires des données (Figure 30).

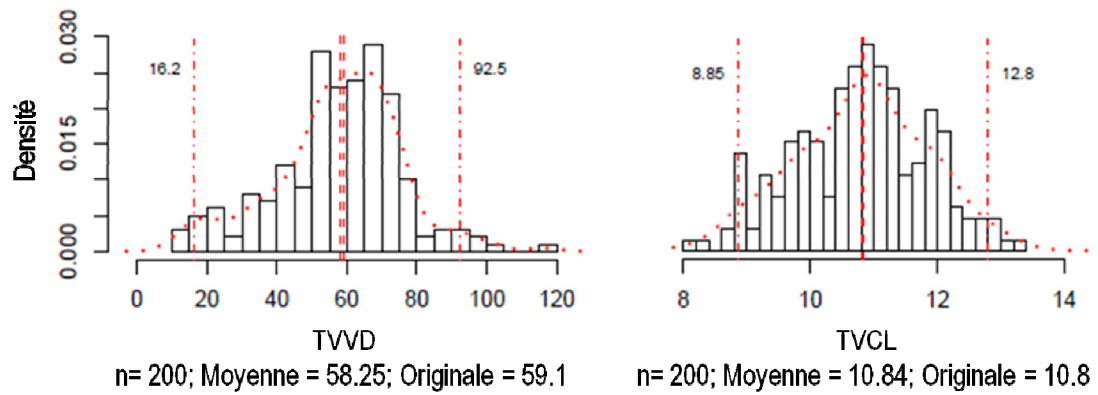


Figure 30 Résultats obtenus après un bootstrap. Les paramètres du modèle final (volume (TVVD) et clairance (TVCL) dans ce cas-ci) ont été ré-estimés plusieurs fois ($n = 200$) à partir d'un nouvel échantillon aléatoire. La distribution des nouveaux paramètres permet d'estimer une valeur moyenne qui est comparée à l'originale. Les traits pointillés (en rouge) représentent l'allure générale de la distribution, les moyennes ainsi que l'intervalle de confiance à 95%.

Le pouvoir prédictif du modèle, quant à lui, est souvent évalué par le « predictive check » .¹¹⁶ La technique consiste à simuler de façon aléatoire plusieurs centaines de données qui sont ensuite comparées avec celles d'origine (observations). Une superposition graphique de ces comparaisons est particulièrement utile (Figure 31).

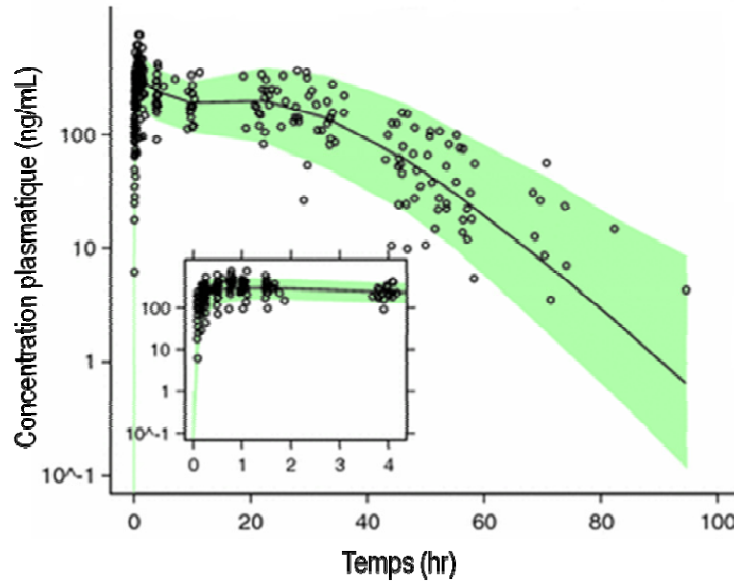


Figure 31 « Visual predictive check » Les cercles représentent les observations, la zone ombrée (en vert) représente l'intervalle de confiance à 95% des simulations du modèle (N = 1.000) et la ligne noire représente la médiane des profils simulés. *D'après Gaudreault et al.*¹¹⁷

CHAPITRE 3: Objectifs et hypothèse de recherche

3.1 Objectifs généraux et hypothèse de recherche

L'objectif principal de ce projet de doctorat est d'étudier la relation PK-PD de la ropivacaïne durant l'anesthésie rachidienne et périphérique (bloc du nerf fémoral) chez des patients subissant une chirurgie du genou. L'objectif secondaire vise à caractériser les facteurs pouvant expliquer la variabilité interindividuelle au niveau des composantes pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de l'agent. L'objectif ultime est de proposer un régime posologique optimal pour la ropivacaïne administrée par voie intrathécale ou fémorale par le biais de simulations. L'hypothèse de recherche est qu'il est possible d'utiliser les concentrations plasmatiques du médicament pour déduire la relation PK-PD d'un médicament déposé localement près de son site d'action.

3.2 Objectifs spécifiques

3.2.1 Dosage des anesthésiques locaux par chromatographie liquide à haute performance

Les stratégies analytiques permettant d'évaluer les niveaux plasmatiques des médicaments lors des études pharmacocinétiques peuvent impliquer la quantification de produits sur une vaste gamme de concentrations qui, ultimement, dicteront la sensibilité et la spécificité requises pour la méthode analytique. Au cours d'études antérieures, notre laboratoire avait tenté de caractériser la pharmacocinétique de la ropivacaïne suivant le bloc du nerf fémoral chez des patients orthopédiques. Comme la principale limite de cette étude était le manque de sensibilité de la méthode analytique, nous avons d'abord optimisé la méthode chromatographique en phase liquide à haute pression (HPLC) de manière à atteindre les niveaux de spécificité et sensibilité nécessaires à la couverture complète du profil pharmacocinétique.

Les objectifs spécifiques étaient de valider une méthode HPLC qui:

- a) permet de doser simultanément deux anesthésiques locaux, soit la ropivacaïne et la bupivacaïne (pour études ultérieures)
- b) soit dotée d'une grande sensibilité (limite de quantification inférieure à 10 ng/mL), spécificité et rapidité (temps de rétention inférieur à 10 min)
- c) soit précise (~ 100 %) et reproductible (coefficient de variation < 15 %)

3.2.2 Évaluation de la fiabilité du seuil de perception sensorielle chez les volontaires sains

Bien qu'il n'y ait aucun doute quant à l'utilité de l'évaluation sensitive des blocs nerveux, d'autres questions demeurent en suspens. Comment évalue-t-on avec certitude l'efficacité d'un bloc ? Est-il possible de mesurer son évolution de manière objective ? Idéalement, un test devrait être reproductible, quantitatif, sélectif, de différents niveaux d'intensité et applicable à toutes les parties du corps.¹¹⁸ Le seuil de perception sensorielle (CPT) est une méthode quantitative qui emploie un stimulus électrique transcutané continu capable de stimuler les fibres nerveuses périphériques. Bien que le CPT ait été utilisé pour mesurer l'intensité, la durée ainsi que l'étendue des blocs centraux (anesthésie rachidienne et périurale),^{65,66} aucune étude n'a évalué sa fiabilité au cours de mesures répétées. De plus, l'applicabilité du CPT pour évaluer cliniquement l'efficacité d'un bloc périphérique n'a jamais été démontrée. Nous avons donc réalisé cette étude en émettant l'hypothèse que le CPT serait fiable, reproductible et permettrait d'évaluer de manière quantitative l'évolution spatiotemporelle du bloc sensitif de la ropivacaïne après un bloc du nerf fémoral.

Les objectifs spécifiques de ces travaux étaient :

- a) d'évaluer la fiabilité du CPT après 5 stimulations successives, appliquées pendant deux jours consécutifs, sur la partie antérieure médiane de la cuisse chez des sujets sains.

- b) d'explorer la possibilité de mesurer de façon quantitative l'évolution spatio-temporelle d'un bloc nerveux périphérique chez des patients orthopédiques.

3.2.3 Caractérisation de l'absorption systémique de la ropivacaïne après un bloc du nerf fémoral

L'absorption de la ropivacaïne en provenance du site d'injection vers la circulation systémique est reconnue pour être beaucoup plus lente que son élimination.¹¹⁹ Ce phénomène de « flip-flop » complique de beaucoup l'analyse du profil temporel des concentrations plasmatiques, dont la partie terminale représente, dans ce cas-ci, l'absorption très lente du médicament plutôt que son élimination. Les quelques études pharmacocinétiques effectuées après un bloc nerveux périphérique¹²⁰ ne possédaient pas la sensibilité analytique nécessaire pour capter cette phase tardive et ne parvenaient qu'à documenter un état pseudo-stationnaire à la fin des prélèvements sanguins. Après avoir optimisé notre méthode analytique, nous avons prélevé plusieurs échantillons sanguins (jusqu'à 18 par patient) pendant près de 4 jours suivant le bloc du nerf fémoral. L'hypothèse étant qu'un tel devis permettrait de caractériser la fin de l'absorption systémique de la ropivacaïne qui, ultimement, servirait à prédire la quantité de médicament présente au site d'injection (dépôt), sans qu'on ait besoin de faire une administration intraveineuse en parallèle.

Les objectifs spécifiques de ces travaux étaient de :

- a) caractériser et modéliser l'absorption systémique de la ropivacaïne suivant le bloc du nerf fémoral chez des patients orthopédiques
- b) identifier les facteurs pouvant expliquer la variabilité interindividuelle au niveau des composantes pharmacocinétiques du modèle

3.2.4 Modélisation de l'effet anesthésiant de la ropivacaïne après le bloc du nerf fémoral par analyse PK-PD de population

La chirurgie orthopédique du membre inférieur engendre des douleurs postopératoires importantes pouvant parfois justifier le recours à des doses relativement élevées d'anesthésiques locaux. La ropivacaïne, réputée moins cardiotoxique que la bupivacaïne, est une alternative intéressante dans ces conditions.

Plusieurs études ont démontré que le début et la durée d'action ainsi que la puissance de la ropivacaïne sont similaires à celles de la bupivacaïne lorsqu'administrée par voie périphérique pour le bloc du nerf fémoral et/ou sciatique.¹²¹⁻¹²³ Casati et al a démontré qu'un volume d'au moins 14 +/- 2 mL d'une solution de chlorhydrate de ropivacaïne 0.5 % était nécessaire pour produire une anesthésie locorégionale du nerf fémoral chez 50% des patients.¹²¹ En utilisant la même concentration, Greengrass et al a démontré que le temps moyen nécessaire pour que s'installe le bloc nerveux se situait entre 14 et 18 min pour les deux groupes (ropivacaïne et bupivacaïne).¹²³ Au-delà de ces données descriptives, il n'existe toujours pas d'études permettant de prédire l'évolution spatiotemporelle du bloc sensitif de la ropivacaïne après un bloc périphérique. Nous croyions qu'un modèle PK-PD permettrait d'optimiser le régime posologique de ce médicament sécuritaire et reconnu pour son efficacité lors de l'anesthésie locorégionale du nerf fémoral.

Les objectifs spécifiques de ces travaux étaient :

- a) de caractériser et modéliser la relation PK-PD du bloc sensitif de la ropivacaïne après un bloc périphérique (fémoral) chez des patients orthopédiques
- b) d'identifier les facteurs pouvant expliquer la variabilité interindividuelle au niveau des composantes PK-PD du modèle
- c) d'identifier une dose optimale par le biais de simulation

3.2.5 Modélisation de la relation PK-PD de la ropivacaïne intrathécale

Plusieurs études démontrent que la ropivacaïne spinale produit une anesthésie chirurgicale efficace chez des patients ambulatoires¹²⁴. Actuellement, la ropivacaïne n'est pas homologuée pour une telle utilisation au Canada en raison d'un manque de données en provenance d'essais cliniques contrôlés. Des études cliniques conduites chez les volontaires sains (phase I) et les patients (phase II) ont néanmoins confirmé que la ropivacaïne spinale produit un bloc nerveux sensitif et moteur dose-dépendant sans avoir d'effet toxique sur la structure neuronale.^{125,126} L'effet anesthésiant (moteur et sensitif) serait cependant de plus courte durée d'action que celui de la bupivacaïne, et cela malgré une qualité d'analgésie similaire.^{127,128} La plus faible lipophilicité de la ropivacaïne serait en partie responsable de cette différence observée à faible dose.¹²⁹ Malgré tout, la ropivacaïne pourrait s'avérer bénéfique chez les patients ambulatoires, pour qui un retour rapide des fonctions motrices suivant la chirurgie est souhaitable.¹³⁰ Cette étude a donc été réalisée dans le but de caractériser la relation PK-PD de la ropivacaïne administrée par voie intrathécale chez des patients subissant une chirurgie ligamentaire du genou. Nous croyions qu'un tel modèle permettrait de prédire l'évolution spatiotemporelle du bloc sensitif de la ropivacaïne spinale. Comme il s'agit d'une indication non homologuée par Santé Canada, nous avons d'abord obtenu une approbation du gouvernement avant d'initier l'étude clinique (Annexe I).

Les objectifs spécifiques de ces travaux étaient :

- a) de caractériser l'évolution spatiotemporelle du comportement sensitif de l'anesthésie rachidienne administrée au niveau L2
- b) d'évaluer l'installation et la dissipation du bloc moteur
- c) de modéliser la composante sensitive de la relation PK-PD après administration spinale de la ropivacaïne
- d) de proposer une dose optimale tenant compte des facteurs contribuant à la variabilité interindividuelle.

SECTION II: TRAVAUX DE RECHERCHE

CHAPITRE 4: High performance liquid chromatography using UV detection for the simultaneous quantification of

François Gaudreault, BSc¹, Pierre Drolet, MD² and France Varin, BPharm, PhD^{1*}.

¹Faculté de pharmacie, Université de Montréal, 2900 boul. Edouard Montpetit, Succursale Centre-ville, Montréal (Québec), Canada H3T 1J4.

²Département d'anesthésie-réanimation, Hôpital Maisonneuve-Rosemont, 5415 boul. De l'Assomption, Montréal (Québec), Canada, H1T 2M4

*Corresponding author

Key words: Ropivacaine, bupivacaine, HPLC, perioperative context

Current Status: Published in [Ther Drug Monit.](#) 2009 Dec;31(6):753-7.

doi: 10.1097/FTD.0b013e3181bc8014.

Abstract

A specific high performance liquid chromatography assay coupled with UV detection (HPLC-UV) has been developed and validated for the simultaneous determination of ropivacaine and bupivacaine in human plasma. A liquid-liquid back extraction procedure was used to increase specificity and very good and consistent recoveries were obtained: 93-95% for ropivacaine and 90-96% for bupivacaine. The lowest limit of quantification (LLOQ) was 4 ng/ml and 8 ng/ml for ropivacaine and bupivacaine, respectively. The method was sensitive, reproducible (C.V. \leq 6.9%) and accurate (96-102%) and was applied successfully to study the pharmacokinetics of ropivacaine and bupivacaine in a perioperative context.

Introduction

Ropivacaine is a long acting amide-type local anesthetic agent with both analgesic and anesthetic properties. It is one of a chemical group, the pipercoloxylidides. Bupivacaine is also a well known member of this group and has been in clinical use for more than 40 years. Both drugs are indicated for local anesthesia including infiltration,¹ perineural techniques,² epidural,³ and intrathecal administration.⁴

Recently, there has been a growing interest for nerve blockade as a choice of perioperative analgesic technique for orthopedic surgery.⁵ However, the most appropriate dose of commonly used local anesthetics such as ropivacaine and bupivacaine has never been properly determined, but is rather chosen by institutional preferences and availability of commercial solution.⁶ Unfortunately, clinicians that administer peripheral nerve blocks do not have at their disposal the tools and data that would allow them to predict precisely the time course of the effect of these drugs. Reported pharmacokinetic data remain uninformative because sampling times were generally limited to the first two hours while systemic absorption is still taking place. These pharmacokinetic clinical studies^{7, 8} were mostly designed to document local anesthetic maximal concentrations (C_{max}) and time to reach C_{max} for safety considerations. In order to fully characterize the pharmacokinetic profiles of ropivacaine and bupivacaine after nerve blockade, blood sampling need to be extended to document the terminal phase of drug disposition. Therefore, a specific and sensitive analytical method is needed to quantify ropivacaine and bupivacaine in patients' plasma sample.

Numerous methods for the simultaneous bioanalysis of ropivacaine and bupivacaine have been previously described including gas chromatography,⁹ and HPLC with UV¹⁰⁻¹⁵ or mass spectrometry detection.¹⁶⁻¹⁸ These methods are often time-consuming^{11, 14}, require the use of a column-switching system^{10, 15} or expensive analytical materials for either the extraction¹³ or detection^{16, 17, 19} of the drugs. The method developed by Reif et al¹² for ropivacaine in rabbit plasma is sensitive and fast with a good extraction yield. However, this method proved to be not rapid and specific enough when applied to patients undergoing orthopedic surgery. Our goal was therefore to optimize these

methods to obtain the higher degree of specificity required to measure plasma concentrations of both local anesthetics after nerve blockade in patients undergoing total knee arthroplasty, without compromising affordability and sensitivity.

Materials and Methods

Drugs, Chemicals, and Reagents

Ropivacaine was kindly provided by AstraZeneca (Montréal, Qc, Canada). Echothiophate iodide was supplied by Wyeth-Ayerst (Princeton, NJ, USA) . Bupivacaine and tetracaine (internal standard, I.S.) were obtained from Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI, USA). Solvents of HPLC grade were purchased from Anachemia (Montréal, Qc, Canada) and all others chemicals were from Fisher Scientific (Montréal, Qc, Canada).

Instrumentation

The HPLC system consisted of a Constametric 4100 pump (TSP, Riviera Beach, FL, USA), a Spectra System AS 3000 injector (Spectra-Physics Analytical, Fremont, CA, USA) and a SM 400 UV detector (Milton Roy, Riviera Beach, FL, USA) set at 205 nm. Peak integration was performed using the Star Chromatography Varian Software version 4.51 (Walnut Creek, CA, USA). Separation was achieved using a C₈ reversed-phase column (150 mm x 4.6 mm I.D., particle size 5 µm, Phenomenex, Torrance, CA, USA). The mobile phase, consisting of a 70:30 mixture of 70 mM sodium sulfate (pH 3.1) and acetonitrile, was prepared daily. The solvent flow rate was 1.5 ml/min and the chromatographic system was operated at 40 °C.

Standard solutions and calibration curves

Working solution of echothiophate iodide (0.2 %) was prepared by diluting the solution (2 %) with a 1:4 mixture of MeOH and saline (pH 3.0). Stock solutions (1 mg/ml) of ropivacaine, bupivacaine and tetracaine were prepared in HPLC water and further diluted to obtain the working solution (10 ug/ml). Each analyte was spiked into a pool of drug-free plasma (1000 ng/ml) that was serially diluted to yield standards at various concentrations down to the LLOQ of 8 and 4 ng/ml. Calibration curves were generated

by weighted regression ($1/X^2$) of the analyte/I.S. peak-height ratio vs the standard concentration of the analyte.

Sample preparation

Pseudocholinesterases in plasma (1ml) were inactivated by adding 25 ul of echothiophate iodide (0.2 %) to prevent tetracaine degradation. To the treated plasma was added 100 ul of the I.S. working solution and 350 ul of sodium carbonate 10 % (w/v) to obtain a final pH of 10.2. A liquid-liquid extraction was then performed using 5 ml of a 4:1 mixture of *n*-hexane-ethyl acetate under high horizontal agitation (Eberbach, Ann Arbor, MI, USA) for 30 min. After centrifugation for 10 min at 2 000 x g, the organic phase was transferred into a conical tube containing 250 ul of 50 mM H₂SO₄ for back extraction. After vortex mixing for 30 seconds, the tubes were centrifuged again for 10 minutes. The organic phase was aspirated under vacuum and the residual organic phase was evaporated under Speedvac® Plus model SC210A (Savant Instruments, Formingdale, NY, USA) for 30 minutes. Thereafter, a 30-150 ul of the residual volume was injected into the HPLC.

Recovery

The recovery of ropivacaine and bupivacaine from plasma was calculated from replicates ($n = 6$) at concentrations of 50 and 400 ng/ml. One mL plasma samples spiked with known amounts of both drugs and I.S. were extracted as usual. Blank plasma samples that contained only the I.S. (10 ug/ml) were extracted and subsequently spiked with the same amount of analytes to give the 100% reference. The recovery was assessed by comparing the peak height ratio (analytes/I.S.) of the two sets of extracts.

Precision and accuracy

Intra-assay precision and accuracy were assessed in 6 replicates at three QC concentrations (10, 50 and 400 ng/ml). All samples were assayed on the same day and their back-calculated concentrations determined from the calibration curve of the day.

Inter-assay precision and accuracy were assessed as follows: five calibration curves with their respective QC samples (10, 50 and 400 ng/ml) were assayed singly on five different days.

Precision was expressed as the coefficient of variation (%) and accuracy as the percentage bias (%). Accuracy was determined by comparing the calculated concentration of the extracted analytes plasma standard with the nominal concentration of analytes.

Stability

Short term, freeze-thaw, and processed samples stabilities of the two drugs, ropivacaine and bupivacaine in plasma were investigated to assess the analytes integrity throughout the procedure. Both medium and high QC concentrations (50 and 400 ng/ml) were used. QC samples ($n = 5$) were analyzed immediately after preparation (100% references) and after storage as follows: (i) Short-term stability was assessed after 5 hours standing at room temperature. (ii) QC samples were subjected to 2 freeze-thaw cycles to assess drug stability. (iii) Finally, stability of the processed samples stored for 24 hours at room temperature in the autosampler was determined.

Clinical application

After informed and written consent, one ASA III patient scheduled to undergo total knee replacement was recruited for the study. Femoral nerve block was performed by injecting 20 ml of ropivacaine 0.5% just below the inguinal ligament close to the femoral artery. Approximately one hour after, 2.5 ml of plain bupivacaine 0.5 % was injected into the subarachnoid space for spinal anesthesia. For ropivacaine, blood samples were obtained before the beginning of the injection (0), at 5, 10, 60 minutes thereafter, and at 10, 70 hours and at the end of the recovery where as sampling times for bupivacaine were collected before (0) and at 2, 8, 19 and 44 hours after the intrathecal injection of the local anesthetic. Samples were kept in an ice-water bath prior to centrifugation at 1 900 x g for 15 minutes. Plasma was immediately flash-frozen on dry ice. Samples were then stored at -70 °C until HPLC analysis.

Results

Representative chromatograms of the two drugs, ropivacaine and bupivacaine, are presented in Fig. 1a. Under the described conditions, the time required for the chromatographic separation of the three compounds is less than 7 minutes.

Specificity and selectivity

Specificity and selectivity of the method was challenged with clinical samples. Throughout the perioperative period, patients were co-treated with the following commonly used drugs: acetaminophen, morphine, fentanyl, lidocaine, propofol, vancomycin, ibuprofen. Additional drugs (caffeine, theophylline, midazolam) were previously tested for potential interferences and only midazolam had to be listed as an exclusion criteria. As shown in Fig. 1b, no interference with the ropivacaine, bupivacaine or I.S. peak was observed in the blank chromatogram of this patient.

Recovery

The mean recoveries after extraction of spiked plasma ($n = 6$) at concentration of 50 and 400 ng/ml were $95 \pm 3\%$ and $93 \pm 1\%$ for ropivacaine and $96 \pm 1\%$ and $90 \pm 6\%$ for bupivacaine, respectively.

Precision and accuracy

The precision and accuracy obtained using the current method are shown in Table 1. Throughout the intra-day evaluation, both drugs had a C.V. of less than 3.0 % and accuracy ranged between 98 and 101 %. During the inter-day assessment, C.V. was less than 7 % and accuracy ranged between 97 and 102 % for both drugs.

Stability

The following results were obtained:

(i) Plasma samples spiked with either ropivacaine or bupivacaine allowed to stand at room temperature for 5 h did not show any significant decrease in the nominal starting concentration with accuracy ranging from 101 to 105 % and 94 to 100 %, respectively.

(ii) Throughout the freeze-thaw cycles, both analytes were found to be stable. Accuracy ranged from 99 to 100 % for ropivacaine and from 100 to 103 % for bupivacaine.

(iii) Accuracy following storage of reconstituted extracts in the autosampler varied from 98 to 101 % for both analytes.

Linearity and LLOQ

Calibration curves ranging from 1000 down to 4 ng/ml showed a good linearity for ropivacaine with a mean average correlation coefficient (r^2) of 0.9987 ($n = 5$; range: 0.9982-0.9996) where as the calibration curves for bupivacaine were linear over the concentration range of 1000 down to 8 ng/ml ($n = 5$; mean $r^2 = 0.9985$; range: 0.9981-0.9991). Such ranges are wide enough to quantify plasma levels of both analytes in drug monitoring. LLOQ was 4 ng/ml for ropivacaine and 8 ng/ml for bupivacaine with a C.V. of less than 5% for both analytes ($n = 5$).

Clinical application of the method

The pharmacokinetic profile of both local anesthetics after femoral nerve block (ropivacaine) and spinal anesthesia (bupivacaine) in one patient undergoing total knee arthroplasty has been established with the present method (Fig. 2). Plasma extracts obtained were free of endogenous or concomitant drugs used perioperatively (Fig. 1c). Plasma levels for this patient were comprised between 249 ng/ml (60 minutes) and 5 ng/ml (93 hours) for ropivacaine and between 35 ng/ml (8 hours) and 9 ng/ml (44 hours) for bupivacaine.

Discussion

A thorough characterization of a plasma-concentrations level profile is an important prerequisite for the elaboration of a pharmacokinetic model that will, in turn, enable identification of the best regimen. For ropivacaine and bupivacaine, such model does not exist mostly because of a lack of a specific and sensitive analytical method. In this study, such an analytical method using HPLC-UV after a simple liquid liquid extraction has been developed, validated, and applied to a patient undergoing lower limb surgery in order to establish the pharmacokinetic profile of these two drugs.

In preliminaries, ropivacaine and bupivacaine were first determined by HPLC using a C₈ analytical column after liquid-liquid extraction of spiked plasma, according to the method described by Bjork et al.⁹ Under these conditions, endogenous interferences were such that the lowest sensitivity achieved with the detector was 31.25 ng/ml. Thus, this method was not specific and sensitive enough to meet our needs. Several approaches were tried to overcome this issue.

First, Bjork et al procedure was further optimized by back extraction of the organic phase with 250 μ L of an acid solution (pH 2.0) instead of direct evaporation to dryness.^{9, 14, 17} Adding this step contributed to a better specificity as no interference for endogenous compounds and common co-administered drugs were detected.

Then four solvents, *n*-hexane and *n*-heptane, ethyl acetate, dichloromethane (DCM), were investigated to improve recovery. Extraction with pure *n*-hexane produced significantly higher extraction yield for the two analytes compared with *n*-heptane alone where as the extraction yield of tetracaine was not influenced by solvent composition. The extraction yield with ethyl acetate and DCM was significantly increased, for the compounds, when these more polar solvents were mixed with *n*-hexane. Compared to DCM, ethyl acetate UV absorption at 205 nm is less and was therefore chosen to complete the solvent mixture. The maximum extraction of ropivacaine and bupivacaine in human plasma was reached with a 4:1 (*v/v*) mixture of *n*-hexane:ethyl acetate. As interfering peak due to ethyl acetate was still observed, remaining solvent mixture was evaporated under SpeedVac® system to improve specificity. Such liquid-liquid back extraction procedure is more efficient than previous methods^{10, 14, 20} and yielded an approximately ten percent higher extraction.

In 1998, Reif et al have reported similar liquid-liquid back extraction of ropivacaine in rabbit plasma.¹² However, a lack of specificity was observed when trying to reproduce it in human plasma. Without affecting the analytes recovery, a better sample matrix clean up was observed when using sodium carbonate 10% instead of NaOH 1 M for the alkalization of the plasma samples (final pH of 10.2 and 11.1, respectively). Indeed, under too stringent alkaline conditions, the spiked plasma was subject to hydrolysis of

soluble products that were UV detected at 205 nm, where the best sensitivity was observed.

Finally, several mobile phase compositions were tested in order to obtain an adequate separation of all analytes in a fast single run. Retention times of ropivacaine, bupivacaine and I.S. on the C₈ column proved to be highly affected by the ionic strength and the acetonitrile content of the mobile phase. Although not improving sensitivity, faster elution of the analytes was achieved by increasing the ionic strength from 0.01 M to 0.07 M of NaH₂SO₄ in buffer and the acetonitrile content from 20 % to 30%. A mobile phase pH variation from 3.1 to 5.1 did not significantly affect run times. As shown in results, the retention times of the three compounds were short, averaging approximately 7 min. In a previous method described by Tanaka et al,¹⁴ the complete separation was obtained within 20 min.

With these modifications, the specificity and sensitivity required to characterize the pharmacokinetic profile of ropivacaine and bupivacaine in patients were reached. Throughout the clinical pharmacokinetic study, samples were exposed to various temperatures, storage and handling conditions. As for results obtained by Mathieu et al,²¹ there were no significant differences in local anesthetics contents independent of the sample storage conditions, indicating the stability of ropivacaine and bupivacaine under experimental conditions.

Conclusion

The method presented herein for the simultaneous determination of ropivacaine and bupivacaine in human plasma is specific, reproducible, sensitive and readily applicable to pharmacokinetic studies in patients undergoing lower limb surgery.

Acknowledgements

This research was supported by Canadian Institutes of Health Research (CIHR; MOP 84519). Mr. Gaudreault's studentship was supported by Faculté de pharmacie de l'Université de Montréal. The authors are grateful to Johanne Couture, from Université de Montréal, and Nadia Godin, from Hôpital Maisonneuve-Rosemont for their technical assistance.

References

1. Zaralidou AT, Amaniti EN, Maidatsi PG, et al. Comparison between newer local anesthetics for myofascial pain syndrome management. *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology*. 2007;29:353-357.
2. de Leeuw MA, Dertinger JA, Hulshoff L, et al. The efficacy of levobupivacaine, ropivacaine, and bupivacaine for combined psoas compartment-sciatic nerve block in patients undergoing total hip arthroplasty. *Pain Pract*. 2008;8:241-247.
3. Koch T, Fichtner A, Schwemmer U, et al. Levobupivacaine for epidural anaesthesia and postoperative analgesia in hip surgery: a multi-center efficacy and safety equivalence study with bupivacaine and ropivacaine. *Der Anaesthetist*. 2008;57:475-482.
4. Camorcia M, Capogna G, Berritta C, et al. The relative potencies for motor block after intrathecal ropivacaine, levobupivacaine, and bupivacaine. *Anesthesia and analgesia*. 2007;104:904-907.
5. Fowler SJ, Symons J, Sabato S, et al. Epidural analgesia compared with peripheral nerve blockade after major knee surgery: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *British journal of anaesthesia*. 2008;100:154-164.
6. Brodner G, Buerkle H, Van Aken H, et al. Postoperative analgesia after knee surgery: a comparison of three different concentrations of ropivacaine for continuous femoral nerve blockade. *Anesthesia and analgesia*. 2007;105:256-262.
7. Connolly C, Coventry DM, Wildsmith JA. Double-blind comparison of ropivacaine 7.5 mg ml(-1) with bupivacaine 5 mg ml(-1) for sciatic nerve block. *British journal of anaesthesia*. 2001;86:674-677.
8. Cuvillon P, Nouvellon E, Ripart J, et al. A comparison of the pharmacodynamics and pharmacokinetics of bupivacaine, ropivacaine (with epinephrine) and their equal volume mixtures with lidocaine used for femoral and sciatic nerve blocks: a double-blind randomized study. *Anesthesia and analgesia*. 2009;108:641-649.

9. Bjork M, Pettersson KJ, Osterlof G. Capillary gas chromatographic method for the simultaneous determination of local anaesthetics in plasma samples. *J Chromatogr.* 1990;533:229-234.
10. Arvidsson T, Askemark Y, Halldin MM. Liquid chromatographic bioanalytical determination of ropivacaine, bupivacaine and major metabolites. *Biomed Chromatogr.* 1999;13:286-292.
11. Kawata T, Homma M, Kakiuchi Y, et al. Liquid chromatographic determination of plasma ropivacaine for assessing pharmacokinetics of the viscous preparation. *Biological & pharmaceutical bulletin.* 2005;28:2271-2273.
12. Reif S, Le Corre P, Dollo G, et al. High-performance liquid chromatographic determination of ropivacaine, 3-hydroxy-ropivacaine, 4-hydroxy-ropivacaine and 2',6'-pipecoloxylidide in plasma. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1998;719:239-244.
13. Rifai N, Hsin O, Hope T, et al. Simultaneous measurement of plasma ropivacaine and bupivacaine concentrations by HPLC with UV detection. *Therapeutic drug monitoring.* 2001;23:182-186.
14. Tanaka E, Nakamura T, Inomata S, et al. Simultaneous determination of three local anesthetic drugs from the pipecoloxylidide group in human serum by high-performance liquid chromatography. *Journal of chromatography.* 2006;834:213-216.
15. Yu Z, Westerlund D. Direct injection of large volumes of plasma in a column-switching system for the analysis of local anaesthetics. II. Determination of bupivacaine in human plasma with an alkylidol silica precolumn. *J Chromatogr A.* 1996;725:149-155.
16. Cobb Z, Andersson LI. Determination of ropivacaine in human plasma using highly selective molecular imprint-based solid phase extraction and fast LC-MS analysis. *Analytical and bioanalytical chemistry.* 2005;383:645-650.

17. Hoizey G, Lamiable D, Robinet A, et al. Sensitive bioassay of bupivacaine in human plasma by liquid-chromatography-ion trap mass spectrometry. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2005;39:587-592.
18. Koehler A, Oertel R, Kirch W. Simultaneous determination of bupivacaine, mepivacain, prilocaine and ropivacain in human serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2005;1088:126-130.
19. Stumpe M, Morton NS, Watson DG. Determination of free concentrations of ropivacaine and bupivacaine in plasma from neonates using small-scale equilibrium-dialysis followed by liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. 2000;748:321-330.
20. Zuo M, Duan GL, Ge ZG. Simultaneous determination of ropivacaine and antipyrine by high performance liquid chromatography and its application to the in vitro transplacental study. *Biomed Chromatogr*. 2004;18:752-755.
21. Mathieu O, Hillaire-Buys D, Dadure C, et al. Liquid chromatography-electrospray mass spectrometry determination of free and total concentrations of ropivacaine in human plasma. *Journal of chromatography*. 2006;831:91-98.

Tables

Table 1

Accuracy and Precision of the Method

Drug	Nominal Concentration (ng/mL)	Intra-assay (n = 6)		Interassay (n = 5)	
		Precision (%)	Accuracy (%)	Precision (%)	Accuracy (%)
Ropivacaine	10	2.1	97.9	3.9	98.6
	50	2.8	99.3	3.1	98.2
	400	1.2	101	3.3	97.4
Bupivacaine	10	2.4	99.5	6.9	102
	50	3.0	99.0	1.7	99.2
	400	0.6	97.6	2.9	96.7

Figures

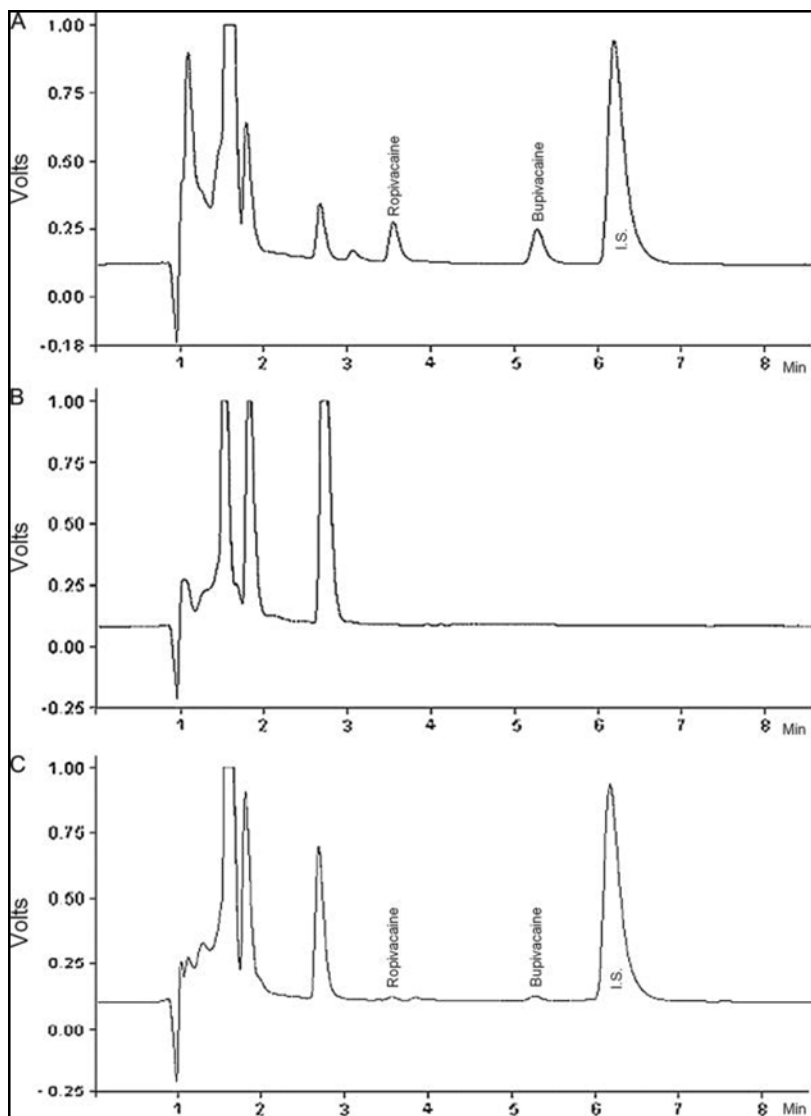


Fig. 1. Typical HPLC chromatograms after extraction of (a) plasma sample spiked with 50 ng/ml of ropivacaine and bupivacaine plus I.S., (b) blank plasma from a patient co-treated with several drugs, and (c) plasma concentrations of ropivacaine (8 ng/ml) and bupivacaine (below LLOQ) measured at 93 hours in a patient undergoing total knee arthroplasty.

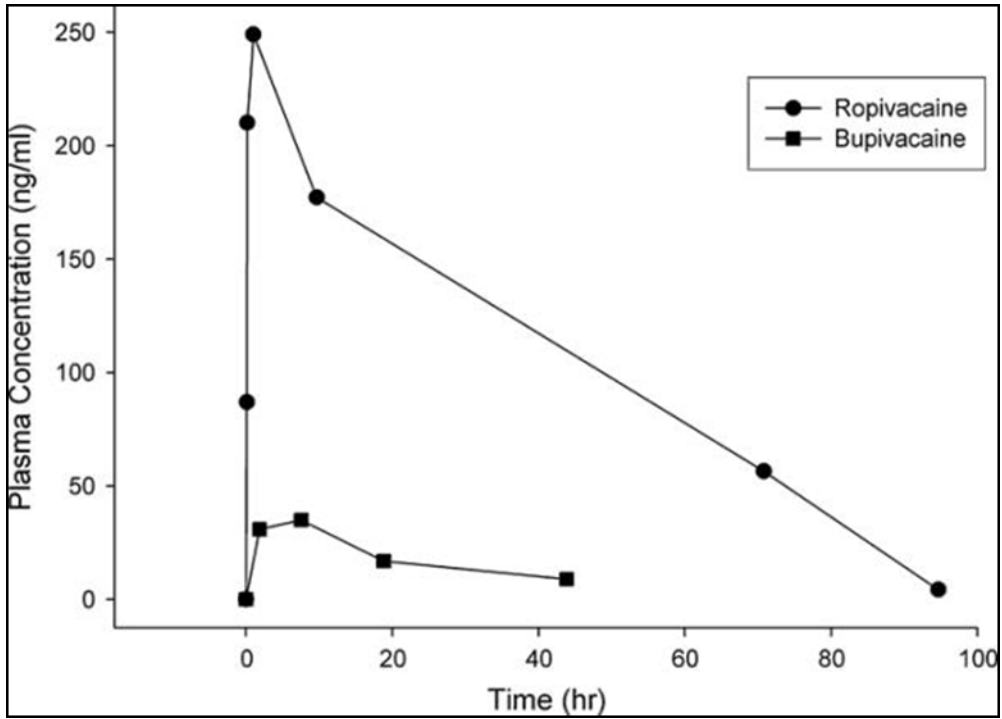


Fig. 2. Ropivacaine and bupivacaine plasma concentration-time profile in a patient undergoing total knee arthroplasty after femoral nerve block and spinal anesthesia.

CHAPITRE 5: Reliability of the current perception threshold in volunteers and its applicability in a clinical setting

François Gaudreault, BSc¹, Pierre Drolet, MD², Michel Fallaha, MD³ and France Varin, BPharm, PhD^{1*}.

¹Faculté de pharmacie, Université de Montréal, 2900 boul. Edouard Montpetit, Succursale Centre-ville, Montréal (Québec), Canada H3T 1J4.

²Département d'anesthésie-réanimation et de ³chirurgie orthopédique, Hôpital Maisonneuve-Rosemont, 5415 boul. De l'Assomption, Montréal (Québec), Canada, H1T 2M4

*Corresponding author

Key words: Current perception threshold, reliability, healthy volunteers, femoral nerve block, orthopedic patients.

Current Status: Under review in [Anesthesia & Analgesia](#).

Abstract

Background – Even though Current Perception Threshold (CPT) has been used for evaluating the effectiveness of sensory block in patients before surgery, its reliability under controlled conditions has not been investigated. Two independent investigations were carried out. The primary objective of the first study was to determine the test-retest reliability of CPT measures after repeated stimulations in a group of healthy volunteers. The objective of the second study was to evaluate the clinical applicability of this technique to assess the sensory onset of a femoral nerve block in patients undergoing knee surgery.

Methods – Thirty healthy subjects participated in two identical sessions, separated by at least 24 hr, in which CPTs were measured after 5 consecutive stimulations over the anteromedial aspect of the thighs. Similar measures were obtained in 15 orthopedic patients receiving a femoral nerve block with 20 mL of ropivacaine 0.5%. Test-retest reliability was assessed using intra-class correlation (ICC) and standard error of measurement (expressed as coefficient of variation, CV_{SEM}) whereas paired Student's *t*-test ($P < 0.05$) compared the increase in CPTs over baseline.

Results – An overall good reliability for CPT measurements was observed in volunteers, with average ICC and CV_{SEM} values of 0.84 and 41 %, respectively. The current intensity needed for sensory perception in orthopedic patients significantly increased, varying from a mean CPT value of $82.5 \pm 66.5 \mu A$ (S.D.) at time zero to an average of $481 \pm 338 \mu A$, 22 ± 8 min after the administration of the local anesthetic.

Conclusions – CPT proved to be a reliable assessment tool for sensory perception in healthy volunteers. Our study also suggests that CPT can be applied to characterize, in a quantitative manner, the sensory onset of a peripheral nerve block in a clinical setting thereby supporting its use in future studies comparing different regional anesthetic modalities or approaches.

Introduction

Sensory assessment of regional analgesia is routine practice in anesthesia and also plays an important role in pain research.¹ The effectiveness of a regional block is currently measured by the elicited response to a simple stimulus such as touch, pinprick or cold applied nearby the site of surgery. These qualitative methods, however, do not enable a precise description of the intensity and time course of the sensory block.^{2,3} There is also evidence that insensibility to these stimuli does not necessarily imply block of nociception during regional analgesia.⁴

Technological progress has provided us with potentially more accurate and quantitative ways of predicting the effectiveness and time-course of a regional analgesia technique in individual patients. The current perception threshold (CPT)⁵ is one of those quantitative measurements that can be used for assessment of sensory blockade. CPT evaluation is performed using a neuroselective diagnostic stimulator (Neurometer® CPT/C, Neurotron, Inc., Baltimore), which uses a microprocessor-controlled constant current sine-wave stimulus. The constant current feature compensates for alterations in skin resistance and standardizes the stimulus between skin thickness and degree of skin moisture. Although the device has been used for quantifying the onset of sensory block after epidural administration of lidocaine,⁶ little has been done to study its reliability.

Two independent investigations were carried out. The first was performed in a group of healthy volunteers with a working hypothesis that CPT measures would be reliable within and between sessions; the primary objective was to test the reliability of the device under controlled conditions. The second study was performed in patients with a working hypothesis that CPT measures could be used to quantitatively assess the onset of a peripheral nerve block; the corresponding objective was to explore the possibility of using this device to characterize the onset of sensory blockade after a femoral nerve block in patients undergoing knee surgery. Ultimately, this quantitative test may be used in pharmacodynamic studies comparing different regional analgesic modalities or approaches.

Materials and Methods

Subjects

Two Institutional Research Ethics Committees (Comité d'éthique de la recherche des sciences de la santé de l'Université de Montréal - Comité d'éthique de la recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont) approved the studies in healthy volunteers and patients, respectively. Thirty healthy subjects aged 18 to 65 years and fifteen American Society of Anesthesiologists (ASA) physical status I-II patients participated after giving written informed consent. Patients were scheduled to receive a femoral nerve block prior to undergoing unilateral primary total knee arthroplasty under spinal anesthesia. Exclusion criteria were: body mass index over 40 kg/m², diabetes, open skin lesion or scars over the testing site (above the knees) and any significant cardiovascular disease. Additionally, patients were excluded if they had any of the following: age >75 yrs, revision surgery, and contraindication to either femoral nerve block or spinal anesthesia.

Instrumentation and procedure

A commercially available neurostimulator (Neurometer® by Neurotron, Inc., Baltimore, MD, USA) was used to quantitatively assess CPT. The device uses a constant electrical sine wave stimulus at different frequencies (5, 250 and 2000 Hz) that have been reported to primarily stimulate small (C), medium (A δ) and large (A β) fibers, respectively.⁵ Mostly because of its possible association with the pain conducting C-fibers,⁷ the 5-Hz frequency (pulse duration: 100 ms) was used throughout the study. The equipment was tested and calibrated according to the manufacturer's guidelines prior data collection on each subject.

Volunteers study

After arrival in a quiet room, healthy subjects were first seated comfortably on a long chair to insure that postural change would not influence CPTs.⁸ After adoption of the standardized position, the current was delivered to the middle anteromedial aspect of

both thighs⁹ by a pair of 1-cm diameter gold-plated surface electrodes provided by the manufacturer. The skin site was cleaned and prepared for testing using a skin prep-paste. The stimulating surface of each electrode was covered by a small amount of hypoallergenic electrode gel and maintained in place with soft foam adhesive strips. The intensity of the non-painful stimulus was increased in steps of 20 μ A at 3 sec intervals. Subjects were instructed to state "stop" when they perceived any change in sensation (itching, burning and/or tickling) at or near the electrodes. At this time, the current was turned off by the operator, decreased by 40 %, and then reapplied in steps of 10 μ A at 3 sec intervals. The CPT was defined as the minimal stimulus intensity required to elicit the sensation after the 2 tests. Subjects were familiarized with this procedure prior to the beginning of the testing sessions.

Each volunteer participated in two sessions (referred below as Day 1 and Day 2) separated by at least 24 hours. Each trial included six repeated CPT measurements separated by an interval of 5 min. This testing sequence was undertaken for both thighs (left and right) on an alternating basis. In order to prevent a possible "order-effect", the side to be tested first was randomly (flip-coin test) selected by the operator. Two operators took part in the study.

Application in patients

After arrival in the operating room, each patient was positioned supine and standard noninvasive monitoring equipments (ECG, non-invasive blood pressure, pulse oxymeter) were applied. IV catheter was placed at the upper limbs for drug(s) and fluid administration. If deemed necessary by the anesthesiologist, a light sedation using IV fentanyl (0.75 μ g/kg) was given before the procedure. Femoral nerve block was performed by the anterior approach using both, ultrasonic guidance and neurostimulation. A linear array ultrasound transducer (L10-5, Zonare Medical System CA, USA) was used to identify the neurovascular structures. After skin infiltration with 1% lidocaine, a short bevel 50-mm, 22-gauge, Teflon-coated neurostimulation needle (Stimuplex, B Braun, Bethlehem, PA) was advanced toward the femoral nerve in order

to elicit an ipsilateral quadriceps contraction at < 0.5 mA (1-2 Hz, 0.1-1.0 ms). At this point, after negative aspiration, 20 mL of ropivacaine 0.5 % (100 mg) was slowly (5 mL every 10 s) injected.

CPT measurements were used to describe the time course of sensory block. For this purpose, the stimulus was applied above the site of surgery (standardized at ~ 15 cm over the knee) as well as the contralateral limb (control site) before the administration of the local anesthetic (baseline measurement) and at approximately 5, 10, 15, 20 and 25 min thereafter. The assumption was that inhibition of nerve conduction at the femoral area would cause an increase in the current intensity required for perception of the electrical stimulus. To confirm the effectiveness of the regional block, sensory evaluation, using an ice cube, was also assessed up to 30 min after the administration of ropivacaine. Loss of cold sensation was determined by the patient's verbal response to the stimulus applied to the middle anteromedial aspect of the thigh. The response was noted as follows: 0 = normal sensation, 1 = no perception.

Data Analysis

Descriptive statistics were used to summarize clinical and demographic characteristics of the participants. Results obtained in healthy volunteers are presented in whisker plot (box plot). CPT values in patients were expressed as mean \pm SD, except for the response to ice-cold testing where an empirical Kaplan-Meier survival analysis was used for plotting the time-course of loss of cold sensation.

Within- and between-day reliability of CPT measurements was evaluated using intra-class coefficient ($ICC_{2,1}$; two-way random effects model) with 95% confidence intervals (CI):¹⁰

$$ICC_{2,1} = \frac{MS_b - MS_w}{MS_b + (k - 1) * MS_w}$$

where MS_b and MS_w are the *between*- and *within*-subjects variance and k is the number of measurements. Within-day reliability was determined by comparing CPT measurements obtained at different times for a given subject. Between-day reliability was assessed by comparing the first measurement taken on each day. The standard error of measurement¹¹, expressed as coefficient of variation (CV_{SEM}), was also calculated to determine the absolute reliability of the measure. Finally, CPT measurements in patients were compared to baseline using a paired Student's t -test.

Sample size calculation was based on the expectation of an ICC value of 0.90 with a minimal acceptable value of 0.75. According to the literature¹², at $\alpha = 5\%$ and $1 - \beta = 80\%$, the inclusion of at least 25 healthy subjects was necessary. Statistical analyses were performed using SPSS® version 20.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). Figures were generated using Sigma Plot (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA) and S-Plus (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA).

Results

Table 1 presents demographic characteristics of the two groups of subjects studied. Thirty healthy volunteers and fifteen orthopedic patients were enrolled in the study from whom five (healthy subjects) dropped out after Day 1 for logistic reasons. Femoral nerve block was successful in twelve patients (12/15), as confirmed by cold ice testing. IV sedation (fentanyl 0.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$) was given to all patients except one (who experienced a successful nerve block). No adverse effect occurred throughout the studies.

Whisker plots displaying CPT measurements obtained in healthy volunteers are shown in Figure 1. Values varied between 4.0 and 525 μA with an overall mean CPT value of $100 \pm 101 \mu\text{A}$. Table 2 shows ICC and CV_{SEM} values for CPT measurements calculated at Day 1 and Day 2. Within-day mean ICC values ranged from 0.80 to 0.90 with an overall mean CV_{SEM} of $\sim 39\%$. Between-day mean ICC values were 0.78 to 0.87 for the right and left thigh, respectively with an overall mean CV_{SEM} of $\sim 45\%$ indicating that day-to-day CPT measurements are slightly more variable.

In orthopedic patients, the effect of ropivacaine on loss of ice-cold sensation (Upper panel) and CPT measurements (Lower panel) at different time points on the control and treated thighs after a femoral nerve block is presented in Figure 2. There was a wide range in the observed maximal intensity for CPTs ($481 \pm 338 \mu\text{A}$, $n = 12$) measurements, with an approximate 483 % increase ($P = 0.012$) from baseline ($82.5 \pm 66.5 \mu\text{A}$, $n = 12$). Ropivacaine's maximal response was observed within 22 ± 8 min of dosing. The increase in CPT values paralleled the time-course of loss of ice-cold sensation in patients.

Discussion

In this study, we evaluated the reliability of CPT measures in a group of healthy volunteers before exploring the possibility of using this technique to characterize, in a quantitative manner, the sensory onset of a peripheral nerve block in orthopedic patients. An overall good reliability ($\text{ICC} > 0.75$)¹³ was shown for CPT measurements in healthy subjects (mean ICC: 0.84). This result is in agreement with Kim et al¹⁴ who reported similar reliability statistics (ICC: 0.76 – 0.89) for measures taken at the infraorbital and inferior alveolar areas in healthy volunteers ($n = 200$, 23.6 ± 3.2 years). This finding suggests that the dermatome area being tested is not likely to influence the reliability of the measure.

In conjunction with ICC, we used the CV_{SEM} to evaluate the reliability of CPT measurements. The CV_{SEM} can be interpreted as the percentage of deviation from the average threshold below which 68 % of the differences between measurements may be expected to lie.¹⁵ In contrast to other measurements of absolute reliability (such as standard error of measurement), the CV is dimensionless (i.e. without unit) and thus very useful when comparing the reliability of different methodologies.¹⁶ In the present study, we found a relatively higher CV_{SEM} (~ 39 %) than that previously reported (~ 28 %) in a group of healthy subjects ($n = 28$, 52.1 ± 13.0 years).¹⁷ A possible explanation lies in the larger incremental step (10 - 20 μA) used in our study to obtain CPT measurements. In published literature,^{6,8,14,17} CPTs were obtained using the standardized

double-blind methodology which briefly consists of two basic steps (the intensity alignment and the forced true and false testing cycles) repeated several times until consistency of response within a range of $\pm 2 \mu\text{A}$ is observed. Although very precise, this testing procedure requires approximately 4 – 5 min per site, which would be clinically unreasonable in many institutions, and was ruled out at the very beginning because the relatively fast onset of sensory blockade expected to occur after a femoral nerve block and spinal anesthesia.⁷ The manual testing method used in our study not only provides faster CPT measurements (less than 30 sec) without compromising reliability ($\text{ICC} > 0.75$), but also the possibility of characterizing, in a quantitative manner, the sensory onset of a peripheral nerve block.

A mean increase of 480 % for CPTs over baseline values was observed 22 min after the administration of ropivacaine in orthopedic patients. This is approximately 10 times higher than the CV_{SEM} observed in volunteers, allowing a good discrimination between sensory response to ropivacaine and baseline noise.

The maximal value of CPT associated with nerve blockade showed, however, a high inter-individual variability most probably because of differences in spatial distribution of anesthesia after a femoral nerve block.⁹ Indeed, standardized positioning of electrodes may have prevented us to capture the full magnitude of the anesthetic effect in some of our patients.

When designing this pharmacodynamic study, CPT measurements were chosen to monitor the time-course of sensory blockade because they produce a continuous quantitative response that was reported to be more precise than qualitative methods (ice-cold testing).^{2,3} Indeed, the category “no cold sensation” inevitably will include different degree of sensory block during ice-cold testing. To our knowledge, this biomarker has not been used for predicting the effectiveness of a peripheral nerve block in a clinical setting. Therefore, to confirm the effectiveness of the sensory block in our patients, we also used the ice-cold test.

Of the 12 patients for whom femoral nerve block was confirmed successful by cold ice testing, 9 of them also showed complete sensory nerve block, as judged by a plateauing of CPTs before surgery. Examination of CPT measurements obtained on the untreated leg showed almost unchanged CPTs, thereby confirming that the sedative effect of opioids does not appear to interfere at 5 Hz. This finding is in agreement with Liu et al who reported that perception threshold to 5 Hz was not changed at dermatome L2 by either epidural or IV fentanyl administration in eight healthy volunteers.¹⁸

The overall agreement observed between the time-course of sensory block onset measured by CPTs and that measured by loss of cold sensation is an interesting finding although direct comparison of both tests was not the objective of this study. We used CPT measures to quantitatively assess the time course of sensory blockade, with the long-term goal of using neurostimulation in future pharmacodynamic studies. Biologically, the relationship between the biomarker and the surrogate endpoint may be explained by the possible selectivity of the 5 Hz frequency toward C-fibers,⁷ which are assumed to mediate thermal sensation in human.¹⁹ If true, this neuroselectivity may offer an additional advantage of this quantitative endpoint over traditional methods when comparing the efficacy of different local anesthetics or their mechanisms of action. However, to our knowledge, there is still no direct evidence of a selective activation of C-fibers by the aforementioned frequency. In fact, these unmyelinated axons have a relatively high activation threshold compared to pain conducting A δ -fibers.²⁰ Therefore, it cannot be ruled out that C-fibers activation after current stimulation at 5-Hz may also be associated with low-threshold A δ -fibers excitation.¹ More studies using multimodal test procedures are needed to assess sensory function after a peripheral nerve block in a fiber-selective manner.

CPTs were chosen instead of pain perception threshold (PPTs) mostly because a relatively fast onset of sensory blockade was expected to occur after a femoral nerve block. Indeed, the intensity at which the stimulus begins to evoke pain (PPT) will not only take a longer time to be reached, but is also expected to yield more censored measurements than CPTs at ropivacaine maximal effect, resulting in the loss of

clinically important information. In addition, PPTs are influenced by the sedative effect of opioids,²¹ which, again, does not appear to be the case with CPT measurements at 5Hz.

Our study presents some limitations. First, inter-rater reliability, which is useful to assess the consistency of different operators in rating a given subject, was not evaluated in the present study. We felt that repetitive observations would lead to fatigue and undesirable learning or aversion effects,¹² and thereby limited the number of raters to one per subject. Second, reliability statistics were assessed on a relatively young population compared to the one investigated for testing the applicability of the method in a clinical setting (Table 1). It cannot be excluded that an age-related increase in skin sensory threshold, as previously reported in a relatively large healthy population (N = 1,632),²² could lead to different reliability statistics. The effect of repeated stimulations on perception levels, or modulation, may also have influenced upon the reliability of the measure. The clinical implication, if any, would be an overestimation of the true pharmacological effect of the local anesthetic in patient.

This report suggests that CPT measurements have an overall good reliability when applied to the middle anteromedial aspect of the thigh in volunteers. Our findings also support the possibility of using CPT measurements to precisely define the onset of sensory block after a femoral nerve block in patients. This quantitative test may be applied in future studies comparing different regional analgesic or anesthetic modalities or approaches.

Acknowledgements

This research program was supported by the Canadian Institutes for Health Research (MOP-84519) and by the Fonds de la Recherche en Santé du Québec (F.Gaudreault's studentship). The authors are grateful to Johanne Couture and Isabelle Beaudoin from Université de Montréal and Nadia Godin from Hôpital Maisonneuve-Rosemont for their technical support. We also want to thank Dr. Louis-Philippe Fortier, Dr. Issam Tanoubi and Dr. Bruno Petit at Hôpital Maisonneuve-Rosemont for their precious collaboration.

References

1. Curatolo M, Petersen-Felix S, Arendt-Nielsen L. Sensory assessment of regional analgesia in humans: a review of methods and applications. *Anesthesiology* 2000;93:1517-30.
2. Curatolo M, Petersen-Felix S, Arendt-Nielsen L et al. Adding sodium bicarbonate to lidocaine enhances the depth of epidural blockade. *Anesth Analg* 1998;86:341-7.
3. Dyhre H, Renck H, Andersson C. Assessment of sensory block in epidural anaesthesia by electric stimulation. *Acta Anaesthesiol Scand* 1994;38:594-600.
4. Curatolo M, Kaufmann R, Petersen-Felix S et al. Block of pinprick and cold sensation poorly correlate with relief of postoperative pain during epidural analgesia. *Clin J Pain* 1999;15:6-12.
5. Katims JJ. Electrodiagnostic functional sensory evaluation of the patient with pain: a review of the neuroselective current perception threshold and pain tolerance threshold. *Pain Digest* 1998;8:219-30.
6. Tay B, Wallace MS, Irving G. Quantitative assessment of differential sensory blockade after lumbar epidural lidocaine. *Anesth Analg* 1997;84:1071-5.
7. Liu S, Kopacz DJ, Carpenter RL. Quantitative assessment of differential sensory nerve block after lidocaine spinal anesthesia. *Anesthesiology* 1995;82:60-3.
8. Shimoda O, Ikuta Y. The current perception thresholds vary between horizontal and 70 degrees tilt-up positions. *Anesth Analg* 2000;91:398-402.
9. Jochum D, O'Neill T, Jabbour H et al. Evaluation of femoral nerve blockade following inguinal paravascular block of Winnie: are there still lessons to be learnt? *Anaesthesia* 2005;60:974-7.

10. McGraw OK. Forming inference about some intraclass correlation coefficients. *Psychological Methods* 1996;1:30-46.
11. Keating J, Matyas T. Unreliable inferences from reliable measurements. *Aust J Physiother* 1998;44:5-10.
12. Walter SD, Eliasziw M, Donner A. Sample size and optimal designs for reliability studies. *Stat Med* 1998;17:101-10.
13. Portney L, Watkins M. Foundations of clinical research: applications to practice. Upper Saddle River, NJ: Person/Prentice Hall, 2009.
14. Kim HS, Kho HS, Kim YK et al. Reliability and characteristics of current perception thresholds in the territory of the infraorbital and inferior alveolar nerves. *J Orofac Pain* 2000;14:286-92.
15. Atkinson G, Nevill AM. Statistical methods for assessing measurement error (reliability) in variables relevant to sports medicine. *Sports Med* 1998;26:217-38.
16. Feltz CJ, Miller GE. An asymptotic test for the equality of coefficients of variation from k populations. *Stat Med* 1996;15:646-58.
17. Pitei DL, Watkins PJ, Stevens MJ et al. The value of the Neurometer in assessing diabetic neuropathy by measurement of the current perception threshold. *Diabet Med* 1994;11:872-6.
18. Liu SS, Gerancher JC, Bainton BG et al. The effects of electrical stimulation at different frequencies on perception and pain in human volunteers: Epidural versus intravenous administration of fentanyl. *Anesthesia and Analgesia* 1996;82:98-102.
19. Davis KD. Cold-induced pain and prickle in the glabrous and hairy skin. *Pain* 1998;75:47-57.

20. Handwerker HO, Kobal G. Psychophysiology of experimentally induced pain. *Physiol Rev* 1993;73:639-71.
21. Skarke C, Darimont J, Schmidt H et al. Analgesic effects of morphine and morphine-6-glucuronide in a transcutaneous electrical pain model in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 2003;73:107-21.
22. Takekuma K, Ando F, Niino N et al. Age and gender differences in skin sensory threshold assessed by current perception in community-dwelling Japanese. *J Epidemiol* 2000;10:S33-8.

Tables

Table 1. Demographic Characteristics of the two Study Groups

Characteristics	Healthy Subjects	Orthopedic Patients
Participants (n)	30	15
Age y (mean \pm SD)	27 \pm 7.5	63 \pm 7.1
Sex (Male/Female)	13 / 17	3 / 12
Body weight kg (mean \pm SD)	68.8 \pm 14.3	83.6 \pm 16.1
Operated leg (Left/Right)	-	8 / 7

Table 2. Within- and Between-day(s) Reliability of the CPT Measure for the Left and Right Thighs in Healthy Subjects

	Left Thigh		Right Thigh	
	ICC ^a (95% CI ^b)	CV _{SEM} ^c (% CV)	ICC ^a (95% CI ^b)	CV _{SEM} ^c (% CV)
<i>Within-day</i>				
Day 1 (n = 30)	0.90 (0.84 – 0.95)	37.4	0.82 (0.72 – 0.90)	40.8
Day 2 (n = 25)	0.80 (0.66 – 0.89)	43.0	0.86 (0.75 – 0.93)	34.5
<i>Between-days (n = 25)</i>				
	0.87 (0.72 – 0.94)	44.3	0.78 (0.57 – 0.90)	45.2

^a ICC: Intra-class coefficient (2,1; two-way mixed effects model)

^b CI: 95% confidence interval.

^c CV_{SEM}: Standard Error of Measurements expressed as coefficient of variation in %.

Figures

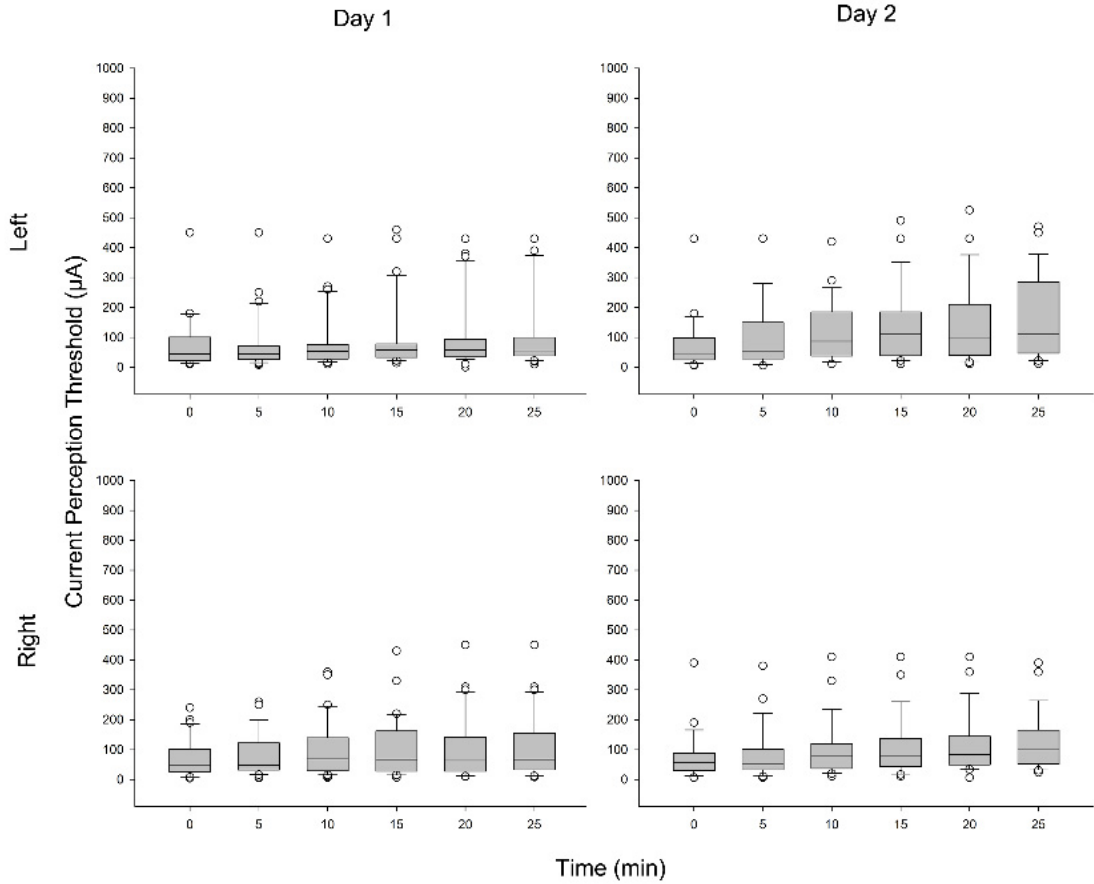


Figure 1. Box and whisker plots displaying differences between current perception threshold (CPT) measurements (in μA) obtained in healthy volunteers over the middle anteromedial aspect of the left and right thighs at two different days. Median CPT values are designated by a line inside the box. Boxes indicate the inter-quartile range (IQR). Whiskers represent $1.5 * \text{IQR}$. Outliers are identified as outside of the whiskers.

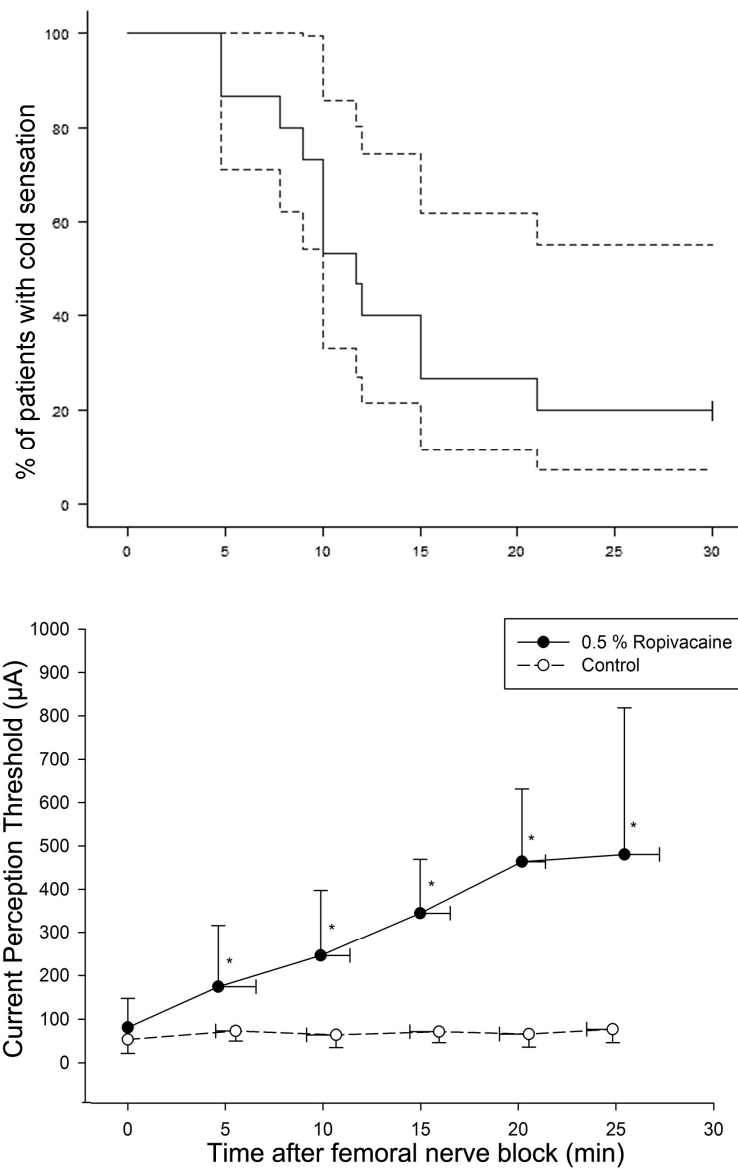


Figure 2. Assessment of sensory block after a femoral nerve block in orthopedic patients. *Upper panel:* Kaplan-Meier survival analysis describing the average time-course of loss of cold sensation (*solid line*) \pm 95% confidence intervals (*broken lines*) in 15 orthopedic patients. *Lower panel:* Current perception threshold (CPT) measurements (in μ A) over the middle anteromedial aspect of 0.5% ropivacaine-anesthetized (\bullet) and control (\circ) thighs in 12 patients of experienced a successful nerve block. Results are expressed as mean \pm SD. * $P < 0.05$.

CHAPITRE 6: A population pharmacokinetic model for the complex systemic absorption of ropivacaine after a femoral nerve block in patients undergoing knee surgery

François Gaudreault, BSc¹, Pierre Drolet, MD², Michel Fallaha, MD³ and France Varin, BPharm, PhD^{1*}.

¹Faculté de pharmacie, Université de Montréal, 2900 boul. Edouard Montpetit, Succursale Centre-ville, Montréal (Québec), Canada H3T 1J4.

²Département d'anesthésie-réanimation et de ³chirurgie orthopédique, Hôpital Maisonneuve-Rosemont, 5415 boul. De l'Assomption, Montréal (Québec), Canada, H1T 2M4

*Corresponding author

Key words: dual-input pharmacokinetic model, population approach, time-dependent absorption, femoral nerve block, local anesthetic, age.

Current Status: Published in [J Pharmacokinet Pharmacodyn.](#) 2012 Dec;39(6):635-42.

doi: 10.1007/s10928-012-9275-z.

Abstract

Because of its slow systemic absorption and flip-flop kinetics, ropivacaine's pharmacokinetics after a peripheral nerve block has never been thoroughly characterized. The purpose of this study was to develop a population pharmacokinetic model for ropivacaine after loco-regional administration and to identify patient characteristics that may influence the drug's absorption and disposition. Frequent plasma samples were taken up to 93 h after a 100 mg dose given as femoral block for postoperative analgesia in 15 orthopedic patients. Ropivacaine plasma concentration-time data were analyzed using a nonlinear mixed effects modeling method. A one-compartment model with parallel inverse Gaussian and time-dependent inputs best described ropivacaine plasma concentration-time curves. Ropivacaine systemic absorption was characterized by a rapid phase (mean absorption time of 25 ± 4.8 min) followed by a much slower phase (half-life of 3.9 ± 0.65 h). Interindividual variability (IIV) for these parameters, 58% and 9%, indicated that the initial absorption phase was more variable. The apparent volume of distribution ($V/F = 77.2 \pm 11.5$ L, IIV = 26%) was influenced by body weight (Δ 1.49% per kg change) whereas the absorption rate constant (slower phase) of ropivacaine was affected by age (Δ 2.25% per yr change). No covariate effects were identified for the apparent clearance of the drug ($CL/F = 10.8 \pm 1.0$ L/h, IIV = 34%). These findings support our hypothesis that modeling a complex systemic absorption directly from plasma concentration-time curves exhibiting flip-flop kinetics is possible. Only the age-effect was considered as relevant for possible dosing adjustments.

Introduction

Nerve blockade is commonly used in patients undergoing orthopedic surgery. Clinically important characteristics of this procedure such as onset time, quality, and duration of block are directly related to the local anesthetic's (LAs) concurrent distribution at and dissipation from, the site of injection [1]. To the best of our knowledge, information regarding the local disposition or neurokinetic of LAs remains sparse. In its simplest form, the systemic uptake of LAs can be represented by a combination of two parallel first-order inputs, roughly reflecting the fast and slow release of the agent from injection site [2]. This mathematical construct has been widely used to characterize the absorption kinetics of LAs after epidural [3] and spinal [4] anesthesia. Two parallel inverse Gaussian density functions (IG) have also been used for paravertebral administration [5]. Despite the relatively widespread use of peripheral nerve blocks in orthopedic patients, there has been no thorough evaluation of the pharmacokinetics (PKs) of LAs for this route of administration. Most studies [6-11] were designed to document peak concentrations (C_{max}) and time to reach C_{max} (T_{max}); both for safety consideration. These descriptive parameters, however, are not true indicators of the absorption kinetics of perineural ropivacaine, particularly in presence of a flip-flop kinetics [1]. In our opinion, insufficient duration of PK sampling was mostly responsible for the pseudo steady-state reported after peripheral nerve block [12]. Such limitation has hindered appropriate estimation of the true systemic uptake of LAs that determine their efficacy and toxicity. Our hypothesis was that modeling a complex systemic absorption directly from plasma concentration-time curves exhibiting flip-flop kinetics is possible after a peripheral nerve block. The present study was conducted to develop a population PK (pop-PK) model for the complex systemic absorption of ropivacaine after femoral nerve block and to identify factors that influence the PKs of ropivacaine in patients undergoing total knee arthroplasty.

METHODS

Patients

After Research Ethics Board approval and written informed consent from each participant, 15 American Society of Anesthesiologists (ASA) physical status I-III patients scheduled to undergo unilateral, primary total knee arthroplasty under femoral nerve block and spinal anesthesia were enrolled in the study. Exclusion criteria were: age <35 yrs or >75 yrs, revision knee replacement, redo surgery, contraindication to femoral nerve block or spinal anesthesia, renal or hepatic failure, hypersensitivity to ropivacaine, fentanyl, morphine or acetaminophen.

Drug administration

After arrival in the operating room, each patient was positioned supine and standard noninvasive monitoring equipments (ECG, non-invasive blood pressure, pulse oxymeter) were applied. IV catheters were placed at the upper limbs for PK sampling and drug and fluid administration. If deemed necessary by the anesthesiologist, a light sedation using IV fentanyl (0.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$), repeated as needed, was given. Femoral nerve block was performed by the anterior approach using both, ultrasonic guidance and neurostimulation. A linear array ultrasound transducer (L10-5, Zonare Medical System CA, USA) was used to identify the neurovascular structures. After skin infiltration with 1% lidocaine, a short bevel 50-mm, 22-gauge, Teflon-coated neurostimulation needle (Stimuplex, B Braun, Bethlehem, PA) was advanced toward the femoral nerve in order to elicit an ipsilateral quadriceps contraction at < 0.5 mA. At this point, after negative aspiration, 20 mL of ropivacaine 0.5% (100 mg) was slowly (5 mL every 10 s) injected.

Pharmacokinetic sampling

Up to 19 venous blood samples (5 mL) per patient were collected into EDTA tubes. Plasma samples were drawn before drug administration (0 h), at 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 90 min and at 4, 10, 21, 33, 45, 57, 69, 81 and 93 h post-dose. Samples were kept in ice-water bath prior to centrifugation (1 900 x g) for 15 min. Plasma was immediately

flash-frozen on dry ice and stored at $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ until HPLC analysis [13]. Measurements below the lower limit of quantification were excluded from data analysis.

Population pharmacokinetic modeling

During model construction, dataset exploration and visualization were performed using S-Plus® 8.0 (Insightful Corporation, Seattle, WA, USA). SPSS® version 20.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL) was used for statistical analysis. Pop-PK analysis was performed with NONMEM®, version VII, Level 1.1, ADVAN6 [14], installed on a Z800 HP computer system using the GNU (g77) Fortran Compiler Version 4.6.0 (Compaq Computer Corporation, Houston, Tx). The first-order conditional estimation method with interaction (FOCE-I) was used throughout the analysis.

A one compartment model with first-order absorption was used as a starting point. Because the absorption of ropivacaine from its perineural site of administration into the blood is known to be complex [5, 8], a deconvolution procedure [15] was used to surmise the input function. The disposition parameters were obtained from a two-compartment model fitted to a ropivacaine IV dataset (rich PK sampling for up to 24 h) provided by Simon and colleagues [16]. Based on the biphasic input function observed from the deconvolution results, a series of dual-input models (with or without lag-time) were tested to assess the biphasic release of ropivacaine from its injection site.

For each NONMEM run, plots for goodness-of-fit [17] were prepared and, as a rule, the following criteria were used to compare different candidate models: physiological or pharmacological relevance of the model, the likelihood ratio test (LRT) and measures of model stability and adequacy (condition number, successful convergence, significance digits, matrix singularity and precision of the parameter estimates). Using the objective function value (OFV), the LRT was primarily applied between nested models to test for any significant ($\Delta\text{OFV} > 6.64$; $P < 0.01$; degree of freedom (df) = 1) improvement in fit. Alternatively, the Akaike Information Criterion (AIC) [18] was used.

The inter-individual variability (IIV) was characterized by assuming that the individual parameters were log normally distributed around the population typical values (Eq. (1)):

$$P_{ij} = \theta_j \cdot \exp(\eta_{ij}) \quad (1)$$

where P_{ij} is the j -th parameter value for individual i , θ_j is the j -th typical parameter value of the population, and $\eta_{ij} \sim N(0, \omega_j^2)$. The structure of the variance-covariance matrix for IIV was refined after finalizing the covariate model.

To account for the difference between predicted and observed values (residual variability (RV)), additive, proportional, and combined additive and proportional residual error models were investigated.

In the covariate screening process, the influence of patient demographic characteristics (body weight (BW), height (HT), body mass index (BMI), sex and age) were assessed on key PK parameters. To screen for potential significant covariates, a preliminary graphical analysis was conducted based on the plots (scatter and whisker) of individual random effects (ETAs or η 's) vs. covariates. Identified covariates were subsequently entered into the model. By default, a continuous covariate was entered as a power model with a nonlinear relationship between the covariate and population parameter (Eq. (2)):

$$P_j = \theta_0 \cdot [X_{ij}/M(X_j)]^{\theta_j} \quad (2)$$

where P_j is the j^{th} mean population parameter value that includes the fixed effects (eg, covariate), θ_j is a nonlinear constant that relates the covariate to the mean population value; θ_0 is the population value where there is no covariate effect (eg, $\theta_j = 0$); X_{ij} is the covariate value for individual i^{th} , and $M(X)$ is the median of covariate X or generally accepted typical value (eg, 70 kg for BW).

The categorical covariate, sex, was evaluated using dummy variables (0 or 1) and as fractional change relative to the reference group (0 for women) (Eq. (3)).

$$P_j = \theta_0 \cdot (\theta_j)^{X_{ij}} \quad (3)$$

where θ_j is the fractional multiplier for θ_0 . Thus, when $X_{ij} = 1$, $P_j = \theta_0 \cdot \theta_j$; when $X_{ij} = 0$ (no covariate effect), $P_j = \theta_0$.

A stepwise model-building procedure, including forward inclusion and backward elimination, with the critical cut-off values of 3.84 (forward: $P < 0.05$; $df = 1$) and 6.63 (backward: $P < 0.01$; $df = 1$) was used to identify covariate-parameter relationships. For highly correlated covariates (eg, BW and BMI), the variable with the highest significance (i.e., either the largest decrease in OFV from the base model or the most physiologically relevant) was used.

Stability of the final model parameters was evaluated by running parametric bootstrap using 1,000 random samples. The estimated parameters were examined for bias and precision via descriptive statistics. Visual predictive checks were used to evaluate the performance of the final model by comparing the 5th and 95th percentiles of the simulated ($N = 1,000$) plasma concentrations with the observed data.

RESULTS

Database description

The ropivacaine PK database was comprised of 15 patients (ASA status I/II/III: 1/11/3) contributing to a total of 218 ropivacaine plasma concentrations. Most of data points (60%) were observed within 10 h of dosing, with another larger cluster of sampling times between 20 and 80 h after the injection of the ropivacaine. The study population consisted of 4 males and 11 females with medians (ranges) age, BW and BMI of 62 yrs (45 – 74 yrs), 91 kg (56.2 – 117.4 kg) and 32.3 kg/m² (25.7 – 45.8 kg/m²), respectively. Only Caucasians participated in this study. Distributions of all continuous covariates were similar in both sexes, except that males exhibited a slightly greater median HT and BW.

Base model development

A two-peak phenomenon in ropivacaine plasma concentration-time profiles was frequently observed in our study (Fig. 1). Results from the deconvolution analysis suggest that the double-peak phenomenon was caused by a biphasic release of ropivacaine from its injection site. As shown in Fig. 2, the input rate of ropivacaine into

systemic circulation was quite rapid at the very beginning, then provided a relatively constant influx for approximately 30 h (between 5 h and 35 h) to subsequently decline monotonically. Based on these observations, several dual-input (fast and slow) models were tested to describe the biphasic absorption of ropivacaine after femoral nerve block. Assuming that the total absorption was complete ($F = 1$), a parameterization with F_{fast} and F_{slow} where $F_{slow} = 1 - F_{fast}$ was used.

Starting with a one-compartment model, the first complex absorption model that was tested had a combination of two parallel first-order input functions (FO-FO model, Eq. (4)).

$$I(t) = Dose \cdot F \cdot \exp^{-k_a \cdot t} \quad (4)$$

where F is the relative fraction of the dose, t is time after dosing and k_a is the absorption rate constant.

This FO-FO model, previously used to describe the PKs of LAs after epidural [3] and intrathecal [4] administration in patients, led to an improvement in the OFV of 53 points over the single first-order absorption (k_a) model (OFV = 2019). Upon visual inspection, the FO-FO did not fit the abrupt decrease of plasma concentration observed after the plateau (fitting not shown). Moreover, the second peak observed in the concentration-time profile of ropivacaine after a femoral nerve block was not characterized by this combination of inputs. The fitting was not further improved by adding a delay (OFV: 2043).

Therefore, a model allowing more flexibility in the time domain, i.e. a sum of inverse Gaussian density functions [19, 20] (IG-IG model, Eq. (5)) was attempted.

$$I(t) = F \cdot \left(\frac{MAT}{2\pi CV^2 t^3}\right)^{1/2} \cdot e \left[-\left(\frac{(t-MAT)^2}{2CV^2 MAT t}\right) \right] \quad (5)$$

where F is the relative fraction of the dose, t is time after dosing, MAT is the mean input rate time, and CV^2 is the variance of the input time distribution .

This IG-IG model, previously used to describe the PKs of ropivacaine after paravertebral administration in patients, successfully characterized the two-peak phenomenon with a significant decrease (-95) in the OFV over the FO-FO model (OFV = 1966). However, the IG-IG model predicted that about 40% of the 100 mg dose would remain in the depot compartment at t_{last} , which is not physiologically possible considering the full bioavailability of ropivacaine reported for neuraxial [16, 21] and paravertebral nerve blocks [5].

Therefore, a combination of inverse Gaussian and time-dependent inputs [22] (IG-TD model, Eq. (6)) was attempted.

$$I(t) = F \cdot k_a / \left[1 + e^{\left[-\frac{t-t_{50}}{\gamma} \right]} \right] \quad (6)$$

where F is the relative fraction of the dose, k_a is the first-order absorption rate constant, t_{50} is the time required to achieve 50% of the maximum input rate, t is time after dosing and γ is a shape parameter of the time-dependent process.

Using the IG-TD model, ropivacaine plasma concentration-time data after femoral nerve block were successfully characterized with a significant decrease (-37) in the OFV compared with the IG-IG model (OFV = 1871). In addition, none of the dose remained in the depot compartment at the end of the kinetics indicating the superiority of this combination over previous dual-input models. The use of a combination of inverse Gaussian and Michaelis Menten functions (with or without lag-time) to characterize this non-linear kinetics did not further improve the model fit. Attempt was made to include an additional peripheral compartment without any successful convergence. As a result, a one-compartment PK model having parallel inverse Gaussian and time-dependent input functions with first-order elimination was identified as the structural model. IIV was included on CL/F , V/F , MAT , k_a and γ . Visual inspection of the ETAs revealed a strong positive correlation ($r > 0.95$) between CL/F and γ . To further simplify the model, empirical Bayes estimates for CL/F and γ were calculated and then compared for each patient. After analysis, no statistical differences were found ($P = 0.883$)

between the two parameters suggesting that the shape factor, accounting for the steepness of the terminal part of concentration-time curves, may be approximated by clearance. This observation allowed simplification of the model and in subsequent analysis, the population estimate for γ was set equal to CL/F without any loss in model performance.

Modeling covariate effects

Modeling of covariate effects resulted in a significant relationship ($P < 0.01$, $\Delta OFV = 8.78$) between BW and V/F . The model predicted V/F to change by approximately 1.49% for each kg difference from the median weight (91 kg). Similarly, k_a was significantly ($P < 0.01$, $\Delta OFV = 8.48$) affected by age, which accounted for approximately 2.25% for each yr difference from the median age (62 yrs). No other covariate-parameter relationship was found to be significant. Unexplained random variability (% CV) was substantially reduced for V/F (26% CV) and k_a (8.7% CV) in the final model, when compared to the base model V/F (39% CV) and k_a (23% CV) variance estimates. ETA shrinkage for all model parameters was very small ($< 5\%$) except for k_a , where the shrinkage was 15%. Attempts were made to further refine the final covariate model by introducing omega (Ω) blocks in the covariance matrix, however, no significant correlations were identified.

Model qualification

Parameter estimates for the final pop-PK model are presented in Table 1. Diagnostic plots revealed that the model prediction was consistent with the observed data and no systemic bias was evident (Fig. 3a, b). A combined proportional and additive (fixed to 0.001) error model was found adequate to describe ropivacaine plasma PK in our patients (Fig. 3c, d). Bootstrap results supported the robustness of the final model based on the calculated 95 % confidence interval (Table 1). Results from visual predictive check are in agreement with the predictive performance of the model as shown in Fig. 4.

DISCUSSION

To the best of our knowledge, this report is the first attempt to describe the complex absorption and disposition of ropivacaine after femoral nerve block in orthopedic patients. Our population analysis confirms that, in a similar manner to neuraxial sites of LAs injection, the systemic absorption of ropivacaine from the femoral space is biphasic, i.e. a rapid initial phase (MAT of 25 min, % CI: 19 – 38 min) followed by a much slower phase ($t_{1/2}$ of 3.9 h, % CI: 2.9 – 6.0 h). A one-compartment model with parallel inverse Gaussian (initial rapid phase) and time-dependent (slow phase) inputs was shown to best describe this biphasic absorption.

Absorption kinetics of ropivacaine after peripheral administration has been previously characterized by two parallel inverse Gaussian functions; roughly representing absorptions from the interstitial fluid and fatty tissues at the perineural site of injection [5]. For the rapid phase, we found a slower MAT after femoral nerve block than after a paravertebral block (26 vs. 8 min, respectively). In view of the poor regional perfusion of the femoral area, a slower vascular uptake of ropivacaine is expected compared with paravertebral administration. A similar pattern was observed for spinal anesthesia, where the initial absorption of bupivacaine was shown to be slower than after epidural injection of the drug [21]. The heterogeneous nature (muscular, tendinous, aponeurotic, fatty, etc.) of the tissues surrounding the femoral nerve may also have contributed to the relatively high IIV (58%) observed for this absorption parameter. For the second absorption phase, we found that a time-dependent function gave a better fit after femoral nerve block than the IG. The physiological relevance of this atypical time-dependent function may be reflective of factors known to alter the tissue distribution of LAs. Because ropivacaine is a relatively lipid soluble compound, it will partition into tissues surrounding the site of injection making its overall vascular absorption rate directly related to blood flow and inversely to its distribution coefficient [1]. The time at which the second peak occurred (~ 24 h post-injection) often overlapped with postoperative physical and rehabilitative therapy. Changes in local perfusion resulting from passive mobilization may then have increased the systemic uptake of ropivacaine. This may also

have contributed to the variability observed for the onset and magnitude of the second peak in our PK profiles (Fig. 1). Another possible explanation for the increased rate of systemic absorption may be related to the physicochemical properties of the drug. Because of its limited aqueous solubility at physiological pH [23], ropivacaine is most likely to precipitate in the tissues once injected at the given dose (100 mg). As it gradually redissolves, the concentration of the agent will increase up to its maximum solubility thereby maintaining a stable tissue/blood concentration gradient and consequently, a stable input rate. Therefore, the physicochemical properties of the agent combined with changes in regional perfusion are two plausible mechanisms that may explain why this time-dependent function gave a better fit in our study.

It was shown previously [24] that the rate constant characterizing the late absorption phase of bupivacaine after intrathecal administration increased with age ($r = 0.547$, $P < 0.02$) in patients ($N = 20$, ages: 22 – 81 yrs) undergoing minor orthopedic surgery. This finding is in line with the outcome of this pop-PK analysis, where age was identified as a covariate for k_a . Indeed, this slow component of the systemic absorption is influenced by age-related changes in local blood flow and/or composition of the femoral space [25]. The increased permeability caused by the age-related deterioration of the myelin sheaths and surrounding tissues at the site of injection may have accelerated the release of LAs into the systemic circulation of our elderly patients. We also found during the covariate analysis a significant relationship between BW and V/F . To the best of our knowledge, BW has never been identified as a covariate on the volume of distribution of LAs. In previous studies [26, 27], potential weight-related effects were sought by comparing C_{max} and body size (HT, BW or BMI). The correlations, however, were not consistent amongst the different types of amide-type LAs (prilocaine, lignocaine and bupivacaine). In our patients, we found a significant negative correlation ($r = -.673$; $P < 0.01$) between ropivacaine C_{max} (range: 235 – 769 ng/mL) and BW. This is probably related to the relatively high lipid solubility of ropivacaine and the presence of fatty tissues nearby the femoral nerve. Despite this weight-effect, measured C_{max} in our low weight patients are, by far, below the threshold for central nervous system and cardiovascular toxicity [28]. No clinically significant side effects have been observed in this study.

Using IV administration of D3-ropivacaine in elderly patients, Simon et al [16] determined the disposition kinetics of the drug and found a larger mean clearance compared with the population typical value obtained in our study (18 vs. 10.8 L/h, respectively). However, in patients where plasma D3-ropivacaine concentrations could be quantified for more than 12 h, the clearance estimates (5.8 – 13 L/h) were similar to those obtained in our study. It cannot be excluded that the decrease in ropivacaine free fraction, as previously reported in pediatric patients [29], may have contributed to this apparent discrepancy.

This study was a major challenge with regards to feasibility. Because of the flip-flop phenomenon, patients had to be followed for more than 3 days in order to thoroughly characterize the absorption kinetics of the agent from its peripheral site of administration. For logistic and ethical reasons, it was not possible to calculate the rate of absorption using concomitant IV administration of a stable isotope. Given the relatively narrow age range of patients undergoing total knee arthroplasty, the observed age-effect should be viewed within the context of this specific population and any extrapolation should be done with caution. This limitation may explain why the apparent clearance was not significantly affected by age in our study. Further studies will be needed to support any dosing adjustment according to age or weight.

Conclusions

In conclusion, a one-compartment model with parallel inverse Gaussian and time-dependent inputs best described the biphasic absorption of ropivacaine after femoral nerve block in patients undergoing total knee arthroplasty. Our findings support the possibility of modeling a complex systemic absorption directly from plasma concentration-time curves exhibiting flip-flop kinetics. From a PK point of view, only the age-effect should be considered as relevant for possible dosing adjustments.

Acknowledgments

This work was supported by the Canadian Institutes for Health Research (MOP-84519) and by the Fonds de la Recherche en Santé du Québec (F.Gaudreault's studentship). The authors are grateful to Johanne Couture from Université de Montréal and Nadia Godin from Hôpital Maisonneuve-Rosemont for their technical support. The authors would like to recognize the contributions of Jun Li at Université de Montréal and John Clements at Merck during model development. We also want to thank Dr. Louis-Philippe Fortier, Dr. Issam Tanoubi and Dr. Bruno Petit at Hôpital Maisonneuve-Rosemont for their precious collaboration in the clinical part.

References

1. Cousins M, Bridenbaugh P, Carr D, Horlocker T (2009) Properties, Absorption and Disposition of Local Anesthetic Agents. In: Mather L, Tucker G (ed) Neural Blockade In Clinical Anesthesia and Pain Medicine, 4th edn., Lippincott Williams & Wilkins, New York, pp 48-96
2. Tucker GT, Mather LE (1975) Pharmacology of local anaesthetic agents. Pharmacokinetics of local anaesthetic agents. *Br J Anaesth.* 47 suppl: 213-224
3. Burm AG, Vermeulen NP, Van Kleef JW, De Boer AG, Spierdijk J, Breimer DD (1987) Pharmacokinetics of lignocaine and bupivacaine in surgical patients following epidural administration. Simultaneous investigation of absorption and disposition kinetics using stable isotopes. *Clin Pharmacokinet.* 13: 191-203
4. Burm AG, Van Kleef JW, Vermeulen NP, Olthof G, Breimer DD, Spierdijk J (1988) Pharmacokinetics of lidocaine and bupivacaine following subarachnoid administration in surgical patients: simultaneous investigation of absorption and disposition kinetics using stable isotopes. *Anesthesiology.* 69: 584-592
5. Karmakar MK, Ho AM, Law BK, Wong AS, Shafer SL, Gin T (2005) Arterial and venous pharmacokinetics of ropivacaine with and without epinephrine after thoracic paravertebral block. *Anesthesiology.* 103: 704-711
6. Zhang J, Zhou W, Jiao Z, Qin W, Xu J, Liang W, Shi X (2011) The pharmacokinetics of ropivacaine in elderly patients undergoing nerve stimulator-guided thoracic paravertebral block. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 25: 592-593
7. Cuvillon P, Nouvellon E, Ripart J, Boyer JC, Dehour L, Mahamat A, L'hermite J, Boisson C, Vialles N, Lefrant JY, De La Coussaye JE (2009) A comparison of the pharmacodynamics and pharmacokinetics of bupivacaine, ropivacaine (with epinephrine) and their equal volume mixtures with lidocaine used for femoral and sciatic nerve blocks: a double-blind randomized study. *Anesth Analg.* 108: 641-649

8. Rettig HC, Lerou JG, Gielen MJ, Boersma E, Burm AG (2007) The pharmacokinetics of ropivacaine after four different techniques of brachial plexus blockade. *Anaesthesia*. 62: 1008-1014
9. Vanterpool S, Steele SM, Nielsen KC, Tucker M, Klein SM (2006) Combined lumbar-plexus and sciatic-nerve blocks: an analysis of plasma ropivacaine concentrations. *Reg Anesth Pain Med*. 31: 417-421
10. Xiao J, Cai MH, Wang XR, He P (2010) Time course of action and pharmacokinetics of ropivacaine in adult and elderly patients following combined lumbar plexus-sciatic nerve block. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 48: 608-613
11. Wulf H, Lowe J, Gnutzmann KH, Steinfeldt T (2010) Femoral nerve block with ropivacaine or bupivacaine in day case anterior crucial ligament reconstruction. *Acta Anaesthesiol Scand*. 54: 414-420
12. Snoeck MM, Vree TB, Gielen MJ, Lagerwert AJ (2003) Steady state bupivacaine plasma concentrations and safety of a femoral "3-in-1" nerve block with bupivacaine in patients over 80 years of age. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 41: 107-113
13. Gaudreault F, Drolet P, Varin F (2009) High-performance liquid chromatography using UV detection for the simultaneous quantification of ropivacaine and bupivacaine in human plasma. *Ther Drug Monit*. 31: 753-757
14. Beal S, Sheiner, L.B., Boeckmann, A., Bauer, R.J. (1989-2009) NONMEM User's Guides. Icon Development Solutions, Ellicott City, MD, USA, 2009,
15. Vaughan DP, Dennis M (1980) Mathematical basis and generalization of the Loo-Riegelman method for the determination of in vivo drug absorption. *J Pharmacokinet Biopharm*. 8: 83-98
16. Simon MJ, Veering BT, Vletter AA, Stienstra R, Van Kleef JW, Burm AG (2006) The effect of age on the systemic absorption and systemic disposition of ropivacaine after epidural administration. *Anesth Analg*. 102: 276-282
17. Karlsson MO, Savic RM (2007) Diagnosing model diagnostics. *Clin Pharmacol Ther*. 82: 17-20

18. Ludden TM, Beal SL, Sheiner LB (1994) Comparison of the Akaike Information Criterion, the Schwarz criterion and the F test as guides to model selection. *J Pharmacokinet Biopharm.* 22: 431-445
19. Csajka C, Drover D, Verotta D (2005) The use of a sum of inverse Gaussian functions to describe the absorption profile of drugs exhibiting complex absorption. *Pharm Res.* 22: 1227-1235
20. Weiss M, Stedtler C, Roberts MS (1997) On the validity of the dispersion model of hepatic drug elimination when intravascular transit time densities are long-tailed. *Bull Math Biol.* 59: 911-929
21. Burm AG (1989) Clinical pharmacokinetics of epidural and spinal anaesthesia. *Clin Pharmacokinet.* 16: 283-311
22. Wei Liu P, Noertersheuser P, Awni W, Dutta S (2009) Time-Dependent, Dual First and Zero-Order Absorption Model for Characterizing the Delayed Absorption Profile in Subjects with Acute Pain. The American Conference on Pharmacometrics Poster Session. <http://2009.go-acop.org/acop2009/posters>. Accessed May 23 2012
23. Fulling PD, Peterfreund RA (2000) Alkalinization and precipitation characteristics of 0.2% ropivacaine. *Reg Anesth Pain Med.* 25: 518-521
24. Veering BT, Burm AG, Vletter AA, Van Den Hoeven RA, Spierdijk J (1991) The effect of age on systemic absorption and systemic disposition of bupivacaine after subarachnoid administration. *Anesthesiology.* 74: 250-257
25. Tsui BC, Wagner A, Finucane B (2004) Regional anaesthesia in the elderly: a clinical guide. *Drugs Aging.* 21: 895-910
26. Moore DC, Mather LE, Bridenbaugh LD, Balfour RI, Lysons DF, Horton WG (1976) Arterial and venous plasma levels of bupivacaine following peripheral nerve blocks. *Anesth Analg.* 55: 763-768
27. Scott DB, Jebson PJ, Braid DP, Ortengren B, Frisch P (1972) Factors affecting plasma levels of lignocaine and prilocaine. *Br J Anaesth.* 44: 1040-1049

28. Mather LE (2010) The acute toxicity of local anesthetics. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 6: 1313-1332
29. Aarons L, Sadler B, Pitsiu M, Sjovald J, Henriksson J, Molnar V (2011) Population pharmacokinetic analysis of ropivacaine and its metabolite 2',6'-pipecoloxylidide from pooled data in neonates, infants, and children. *Br J Anaesth.* 107: 409-424

Tables

Table 1 Final population parameter estimates

Parameters	Population estimates (RSE %) ^c	95% CI ^a of population estimate	BSV ^b (CV%) ^d (RSE %) ^c	95% CI ^a of BSV ^b (CV%) ^d
<i>Cl/F</i> (L/h)	10.8 (9.60)	9.09 – 12.1	33.7 (25.3)	23.3 – 40.5
<i>V/F</i> (L)	77.2 (14.9)	43.1 – 91.7	25.9 (43.5)	12.6 – 36.5
BW on <i>V/F</i> ^e	1.36 (25.7)	0.71 – 2.02	-	-
<i>MAT</i> (h)	0.428 (18.9)	0.315 – 0.627	58.3 (40.3)	31.9 – 77.3
<i>CV</i> (%)	1.09 (6.55)	0.964 – 1.19	-	-
<i>k_a</i> (h ⁻¹)	0.176 (16.4)	0.115 – 0.243	8.66 (75.4)	2.28 – 23.1
AGE on <i>k_a</i> ^f	1.57 (23.6)	0.65 – 2.36		
<i>t₅₀</i> (h)	21.9 (7.20)	19.3 – 25.4	-	-
<i>F_{fast}</i>	0.348 (15.1)	0.214 – 0.421	-	-
Proportional residual variability (CV%) ^d	22.5 (9.43)	18.3 – 24.9	-	-

^a95% CI: 95% confidence interval. The lower and upper limits for 95% were calculated using the bootstrap (N = 1000)

^bBSV: Between subject variability, calculated as (variance)^{1/2}*100%

^cRSE%: Residual standard error estimated by the covariance step in NONMEM expressed as percent

^dCV%:Coefficient of variation expressed as percent

$$^e V/F = \left(\frac{BW}{91}\right)^{1.36}$$

$$^f k_a = \left(\frac{age}{62}\right)^{1.57}$$

Figures

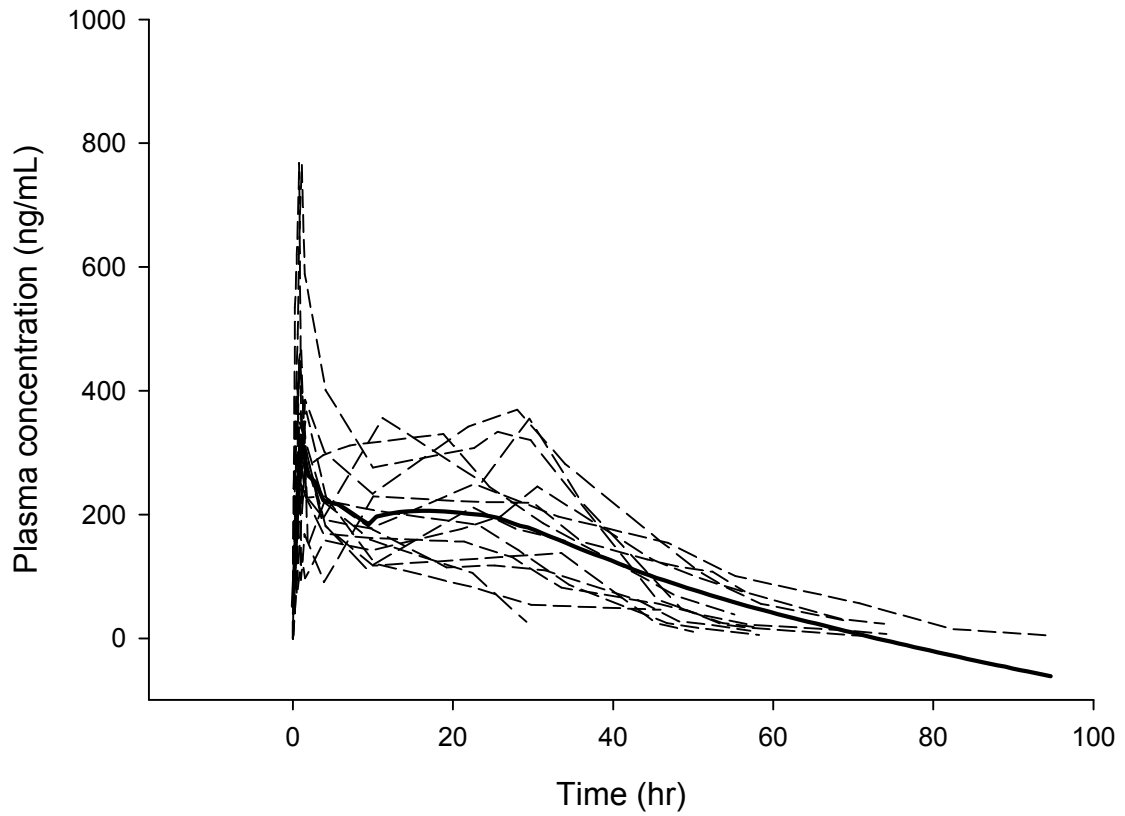


Fig. 1 Ropivacaine plasma concentration-time profiles following a femoral nerve block in orthopedic patients. The thick solid line represents the LOESS trend (local regression)

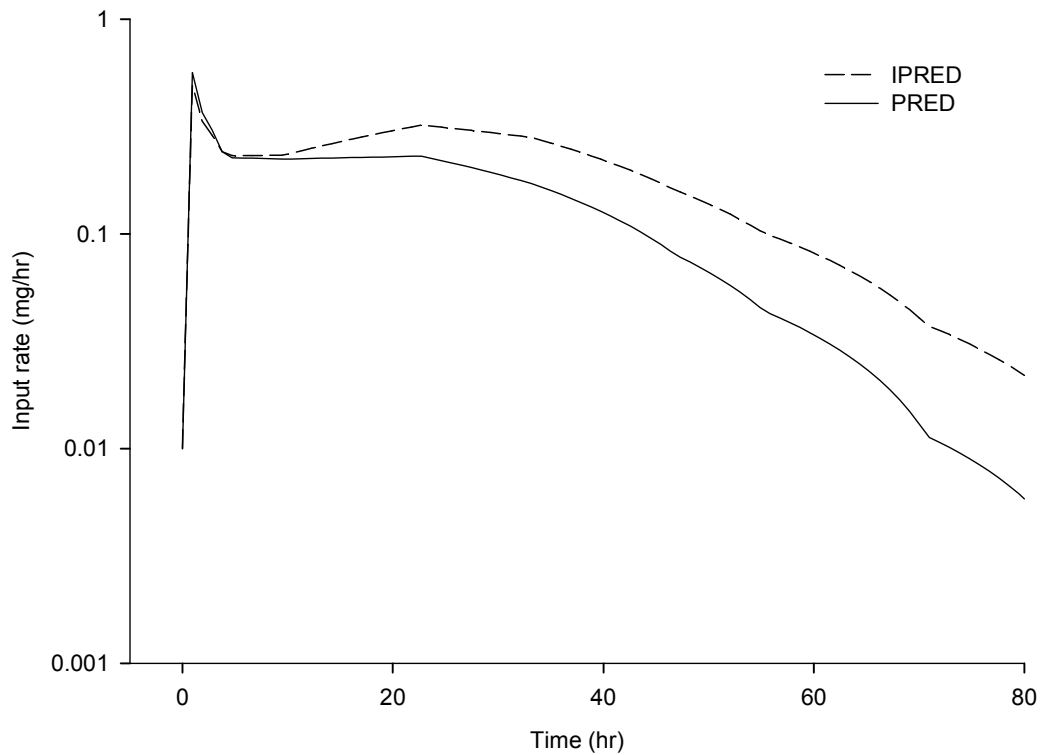


Fig. 2 Mean input rate estimated for the population after perineural administration of ropivacaine. The solid line represents the population prediction (PRED) and the dashed line depicts the individual prediction (IPRED) for a representative patient. IV data used for the deconvolution analysis were obtained from the ref [16]

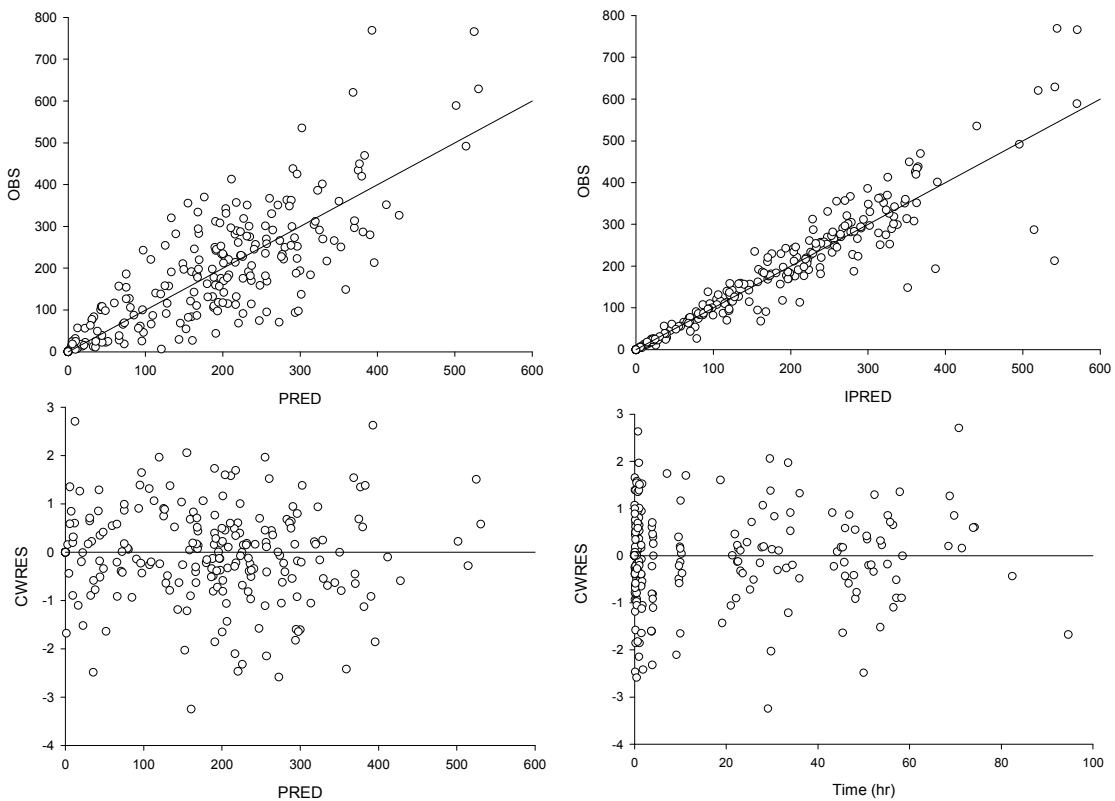


Fig. 3 Diagnostic plots for the final pop-PK model. **(a)** Plots of observed (OBS) plasma concentrations against predicted (PRED); **(b)** OBS plasma concentrations against individual prediction (IPRED); **(c)** conditional weighted residuals (CWRES) against PRED plasma concentrations and; **(d)** CWRES against time

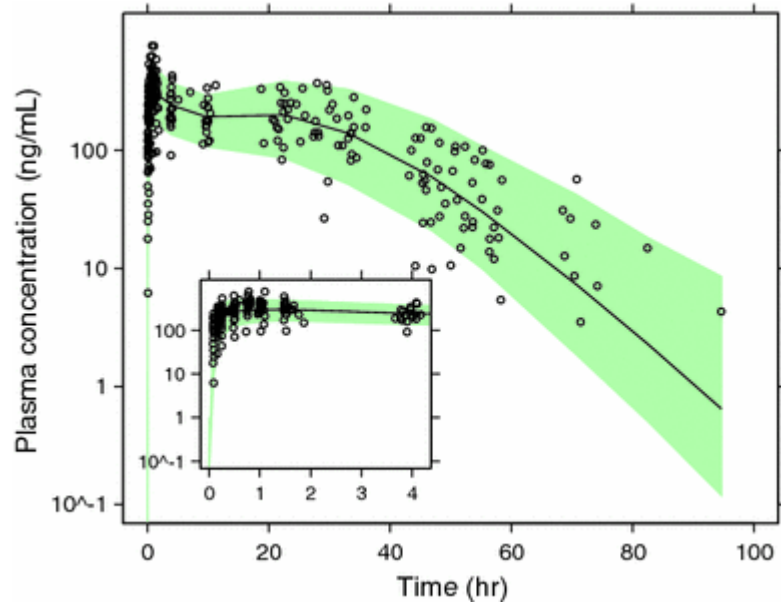


Fig. 4 Visual predictive check of the final model. The circles represent the observations, the shaded areas represent the 95% confidence intervals of the model simulations ($N = 1,000$) and the solid black line depicts the median profile

CHAPITRE 7: Modeling the anesthetic effect of ropivacaine after a femoral nerve block in orthopedic patients: A population PK-PD analysis

François Gaudreault, BSc¹, Pierre Drolet, MD², Michel Fallaha, MD³ and France Varin, BPharm, PhD^{1*}.

¹Faculté de pharmacie, Université de Montréal, 2900 boul. Edouard Montpetit, Succursale Centre-ville, Montréal (Québec), Canada H3T 1J4.

²Département d'anesthésie-réanimation et de ³chirurgie orthopédique, Hôpital Maisonneuve-Rosemont, 5415 boul. De l'Assomption, Montréal (Québec), Canada, H1T 2M4

*Corresponding author

Key words: Pharmacokinetics, pharmacodynamics, ropivacaine, femoral nerve block, current perception thresholds, orthopedic patients

Current Status: Under review in [Anesthesiology](#)

Abstract

Background: Even though ropivacaine is frequently used during orthopedic surgery, the relationship between plasma concentrations and degree of sensory anesthesia after a peripheral nerve block is currently unknown. The aim of our study was to characterize this relation using population pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK/PD) modeling.

Methods: Femoral nerve block was performed by the anterior approach using a single injection (20 ml) of ropivacaine hydrochloride 0.5 % in 20 patients scheduled for total knee arthroplasty under spinal anesthesia. Sensory thresholds in response to a gradual increase in transcutaneous electrical stimulation (primary endpoints), loss and recovery of ice-cold sensation, as well as ropivacaine plasma concentrations were determined up to 3 days after the administration of the local anesthetic. Using NONMEM, the sensory block was modeled by assuming an equilibration delay (k_{e0}) between the amount in the depot and effect-site compartment.

Results: The effect-site amount producing 90% of the maximum possible effect (AE_{90}) was estimated as 20.2 ± 10.1 mg. At $2 \times AE_{90}$, the sigmoid E_{max} model predicted an onset time of 23.4 ± 12.5 min and a duration of 22.9 ± 5.3 h. Interindividual variability (IIV) for AE_{50} was 49 %. The k_{e0} half-life was 34.7 ± 10.3 min (IIV = 52 %) and the steepness parameter 8.7 ± 1.6 (IIV = 48 %). None of the PD model parameters showed sex, age or body weight dependency.

Conclusions: A population PK-PD model was developed that quantitatively describes the sensory component of a femoral nerve block in orthopedic patients. Such model may be used to predict the time-course of sensory blockade and to optimize dosing regimen.

Introduction

Since its market introduction in 1996, numerous clinical trials have demonstrated the efficacy of ropivacaine in providing prolonged sensory blockade when used for peripheral local anesthesia.¹ Despite this, no research attempted to characterize the pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK-PD) relationship of ropivacaine after a peripheral nerve blockade, most probably because of the lack of adequate quantitative pharmacodynamic endpoints. The complex systemic absorption of ropivacaine after a peripheral nerve block² certainly represented an additional challenge.

Recently, the authors reported that a current perception threshold (CPT) testing device, previously used to monitor the time-course of spinal³ and epidural⁴ anesthesia, not only displays very high reliability in healthy volunteers but is also applicable in a clinical setting to quantitatively assess the onset of a femoral nerve block (unpublished data). We have also demonstrated that the biphasic release of ropivacaine from its perineural (femoral) site of injection can be characterized by a combination of parallel inverse Gaussian and time-dependent inputs in orthopedic patients.⁵ This study enabled us to identify an age-related increase in the systemic absorption of ropivacaine. In the current report, we perform a population PK-PD analysis of the sensory component (CPT and ice-cold testing) of the response to ropivacaine using this pharmacokinetic model. The underlying assumption is that the estimated rates of systemic absorption can be used to assess the relationship between the sensory response and the estimated amount of drug remaining at the site of injection (depot). Ultimately, such relationship could be used for predicting the clinical course of the block and thus allow for better and more efficient dosing regimens.

Materials and methods

Subjects

After Research Ethics Board approval (*Comité d'éthique de la recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont*, Montreal, Canada: protocol No. 07123) and obtaining written informed consent, twenty (20) American Society of Anesthesiologists (ASA) physical status I-III patients scheduled to undergo unilateral, primary total knee arthroplasty under femoral nerve block and spinal anesthesia were enrolled in the study. Exclusion criteria were: age <35 yrs or >75 yrs, redo surgery, contraindication to femoral nerve block or spinal anesthesia, significant renal or hepatic impairment, hypersensitivity to ropivacaine, fentanyl, morphine or acetaminophen.

Ropivacaine Administration and Blood Sampling

After arrival in the operating room, each patient was positioned supine and IV catheters (for pharmacokinetic sampling, drug and fluid administration) were placed at the upper limbs. If deemed necessary by the anesthesiologist, a light sedation using IV fentanyl (0.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$) was given. Femoral nerve block was performed by the anterior approach using both, ultrasonic guidance and neurostimulation. A linear array ultrasound transducer (L10-5, Zonare Medical System CA, USA) was used to identify the neurovascular structures. After skin infiltration with 1% lidocaine, a short bevel 50-mm, 22-gauge, Teflon-coated neurostimulation needle (Stimuplex, B Braun, Bethlehem, PA) was advanced toward the femoral nerve in order to elicit an ipsilateral quadriceps contraction with upward patellar movement at < 0.5 mA. At this point, after negative aspiration, 20 mL of ropivacaine hydrochloride 0.5% (Naropin®, corresponding to 88.3 mg base) was slowly (5 mL every 10 s) injected. Pharmacokinetic and pharmacodynamic measures were carried for approximately 30 min as described below. The patient was then placed in the sitting position and, following skin infiltration with 1% lidocaine hydrochloride, a 27 gauge Whitacre spinal needle was introduced into the subarachnoid space via the L2-L3 interspace. After free cerebrospinal fluid aspiration, a 2.0 mL bolus dose of 0.5 % plain bupivacaine hydrochloride (10.0 mg) was injected.

The patient was finally placed supine till the end of surgery. In the recovery room, subject received patient-controlled analgesia (PCA) set to deliver IV morphine in 1 mg boluses, with a lock out interval of 6 min (maximum 40 mg) for post-operative pain management. Venous blood sampling was performed before ropivacaine administration (0 h), at 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 min and 4, 10, 21, 33, 45, 57, 69, 81 and 93 h thereafter. Plasma was separated and stored at -70 °C prior HPLC analysis.⁶ Measurements below the lower limit of quantification (3.9 ng.mL⁻¹) were excluded from data analysis.

Pharmacodynamic Evaluations

Quantitative sensory testing (biomarker). Transcutaneous electrical stimulation was applied over the skin of the middle anteromedial aspect of both thighs via a pair of 1-cm diameter gold-plated surface electrodes linked to a neurostimulator (Neurotron, Inc., Baltimore, MD, USA). The device can deliver a constant electrical sine wave stimulus at different frequencies (5, 250 and 2000 Hz) that have been reported to primarily stimulate small (C), medium (A δ) and large (A β) fibers, respectively.⁷ Mostly because of its possible association with the pain conducting C-fibers,³ the 5-Hz frequency (pulse duration: 100 ms) was used throughout the study. CPT evaluation was performed as previously described with slight modifications.^{3,4} Briefly, the intensity of the non-painful electrical stimulus (5-Hz sine wave pulses, cut-off 9.99 mA) was increased in steps of 20 μ A at 3 sec intervals from 0 μ A until the patient felt any change in sensation (CPT). The current was then turned off, repeated in steps of 10 μ A and the intensity noted. CPT measurements were performed before the injection of ropivacaine (t = 0 or baseline), at approximately 5, 10, 15, 20 and 25 min after injection, then at various times in the post-operative period (up to 2 days after the administration of ropivacaine). This testing sequence was undertaken for both thighs (left and right) on an alternating basis. Baseline values were obtained in triplicate for each patient; the average value was used for data analysis.

In some patients, pain perception threshold (PPT) had to be used instead of CPT to quantitatively assess nerve blockade during the post-operative period. PPT evaluation at

L2 (middle anteromedial aspect of the thigh) was performed by increasing the current stepwise⁷ (controlled by the device) until the patient reported a painful sensation (PPT) at which stimulation was stopped and PPT value recorded. This procedure was carried out only in those patients who experienced a successful sensory block (ice-cold testing, see below) despite any significant change in the CPT. The observed change from baseline values was considered significant when higher than the standard error of the measure (unpublished data) expressed as coefficient of variation (SEM_{CV} of 41 %). Baseline values were also obtained in triplicate in those patients, but after recovery and the average value used for data analysis.

Ice cold-testing. To corroborate successful block, sensory evaluation, using an ice cube, was assessed up to 30 min after the administration of ropivacaine. Loss of cold sensation was determined by the patient's verbal response to the stimulus applied to the middle anteromedial aspect of the operated thigh. The response was noted as follows: 0 = normal sensation, 1 = no cold perception. Additional measurements were taken throughout the post-operative period until return of cold sensation.

PK-PD analysis

Pharmacokinetic Analysis. As previously described,⁵ a one-compartment model with parallel inverse Gaussian and time-dependent inputs (fast and slow release, respectively) was fitted to ropivacaine plasma concentration-time data. This combination of input roughly represents absorptions from the interstitial fluid (fast) and fatty tissues (slow) at the perineural site of injection. Assuming complete absorption (fraction absorbed [F] = 1), a parameterization with F_{fast} and F_{slow} where $F_{slow} = 1 - F_{fast}$ was used. The inter-individual variability (IIV) was characterized by assuming that the individual parameters were log normally distributed around the population typical value:

$$P_{ij} = \theta_j \cdot \exp(\eta_{ij}) \quad (1)$$

where P_{ij} is the j-th parameter value for individual i , θ_j is the j-th typical parameter value of the population, and $\eta_{ij} \sim N(0, \omega_j^2)$. The structure of the variance-covariance matrix for IIV was refined after finalizing the covariate model. The improvement of model fit

by inclusion of the covariates age, sex and body weight was tested using the likelihood ratio criterion (see statistical analysis).

Pharmacodynamic Analysis. The two sensory thresholds (CPT and PPT) were modeled by assuming that the inhibition of nerve conduction at the femoral area would cause an increase in the current intensity needed for the perception of the stimulus. To collapse the hysteresis observed between the pharmacodynamic response and the amount in the depot compartment (derived from concentration-time data), a hypothetical effect compartment was added with an equilibrium half-life, $T_{1/2}ke_0$ (fig. 1). A sigmoid E_{max} model was then used to describe the time-course of the effect:

$$E(t) = E_0 + \frac{E_{max} \cdot AE(t)^\gamma}{AE_{50}^\gamma + AE(t)^\gamma} \quad (2)$$

where E_0 is the baseline current intensity (that is before the administration of the local anesthetic (CPT) or after recovery (PPT)), E_{max} is the current intensity at maximum ropivacaine-induced effect, AE_{50} is the effect-site amount corresponding to 50 % of E_{max} , $AE(t)$ is the effect-site amount at time t and γ is a shape parameter.

The binary response to ice-cold testing was analysed using a time-to-event model⁸ with a time-varying hazard described as follows:

$$h(t) = \lambda \alpha (\lambda t)^{\alpha-1} \quad (3)$$

$$S(t) = e^{-\int_{t_j}^{t_{j+1}} h(t) dt} \quad (4)$$

where the hazard $h(t)$ is a function of a rate constant λ and a shape parameter α (hazard increases with time when $\alpha > 1$). The survival curve $S(t)$, which describes the probability of not having an event (loss and recovery of cold sensation) within a certain time interval (t_j to t_{j+1}), is a function of the cumulative hazard. Hence, the likelihood for having an event at time t is the probability density function, i.e. $S(t) \cdot h(t)$.

Statistical analysis

Data analysis was performed with NONMEM®, version VII, Level 1.1, ADVAN6.⁹ The first-order conditional estimation method with interaction (FOCE-I) was used

throughout the analysis except for binary data (ice-cold responses) where the Laplacian option was used. To handle censored observations (above the cut-off of the device), a likelihood based approach¹⁰, in which data above the upper limit of quantification are treated as censored, was also tried. With this method, the likelihood for a censored observation is obtained by integrating the density function from the cut-off value (9.99 mA) to infinity.

The PK-PD analysis was performed using a sequential approach. First, empirical Bayesian estimates were obtained from the pharmacokinetic model and then used to predict ropivacaine-induced changes in log-transformed responses to neurostimulation (CPT and PPT). Model parameters were assumed to be log-normally distributed across the population (Eq. (1)). Residual error was assumed to be proportional both for concentrations and effect parameters.

The method used for the quantitative assessment of nerve blockade, i.e. CPT or PTT, was included as a covariate on E_0 and E_{max} . Additionally, the influence of patient demographic characteristics (age, body weight and sex) was tested on key pharmacodynamic parameters. Using the objective function value (OFV), the likelihood ratio test was applied between nested models to test for any significant [$\Delta\text{OFV} > 6.64$; $P < 0.01$; degree of freedom (df) = 1] improvement in model fit.

Model evaluation

Visual predictive checks were used to evaluate the performance of the final models by comparing the 5th and 95th percentiles of the simulated ($N = 1,000$) anesthetic effects with the observed data. For ease of inter-individual comparison, estimated sensory thresholds (in μA) were normalized by converting them to percent of maximum possible effect (% MPE):

$$\% \text{ MPE} = \left(\frac{ER_{pred} - ER_{baseline}}{ER_{max} - ER_{baseline}} \right) * 100 \quad (5)$$

where $ER_{baseline}$, ER_{pred} and ER_{max} are the estimated responses (CPT or PPT) at baseline, time t and maximum ropivacaine-induced effect, respectively.

Stability of the final PK-PD model parameters was evaluated by parametric bootstrapping using 1,000 random samples. The estimated parameters were examined for bias and precision via descriptive statistics.

External validation was conducted by assessing the ability of our population model to predict ropivacaine plasma concentrations previously obtained from a separate group of patients in our institution.¹¹ Briefly, data were retrospectively collected from twelve orthopedic patients after a femoral nerve block using a single injection (30 mL) of ropivacaine hydrochloride 0.5 % plus epinephrine 1:200,000, followed by a 48 h infusion of ropivacaine hydrochloride 0.2% at 12 mL.h⁻¹. Linearity between the dose and the area under the plasma concentration-time curve was assumed. Nine blood samples were collected during the infusion. Ropivacaine plasma concentrations were measured using an analytical assay similar to that used for the model-building group. The demographic characteristics of the patients used for model development were similar to those used for validation. Ropivacaine plasma concentrations were predicted by fixing the parameters in the structural and variance model to the parameter estimates in the final model. The predicted values were compared with the corresponding observed values, given the dosage history. Bias and precision were calculated with 95% CIs, using the eq. 6 and 7:

$$Bias = \sum \frac{(C_{pred} - C_{obs})}{N} \quad (6)$$

$$Precision = \sum \frac{|C_{pred} - C_{obs}|}{N} \quad (7)$$

where C_{obs} and C_{pred} are the observed and predicted concentration, respectively and N denotes number of observations.

Results

Table 1 presents the demographic characteristics of the participants. One patient was excluded from data analysis for major protocol violation (wrong solution used for nerve blockade). Femoral nerve block was unsuccessful in three patients out of nineteen, as measured by ice-cold testing. In these patients, CPT values ($78.3 \pm 36.2 \mu\text{A}$) were also

not significantly different from baseline values ($65.9 \pm 18.9 \mu\text{A}$) and were therefore excluded from pharmacodynamic analysis. In the remaining sixteen patients who experienced loss of cold sensation, three of them had to be evaluated using PPT measurements during the recovery phase. IV sedation (fentanyl $0.75 \mu\text{g}/\text{kg}$) was given to all patients except one. No adverse effect occurred throughout the study.

Pharmacokinetic data analysis

Mean observed plasma concentrations of ropivacaine are given in figure 2. A biphasic release of the agent from the femoral space was observed, with a rapid initial phase (mean absorption time [MAT] of 27.2 min, % CI: 21 – 37 min) and a slower phase (first-order absorption rate constant [ka] $t_{1/2}$ of 2.6 h, % CI: 1.9 – 4.9 h). To further illustrate this, a deconvolution analysis (ref) was performed on the measured plasma concentrations using IV data from the literature (ref). As shown in figure 3, the resulting cumulative fraction of ropivacaine absorbed vs time exhibit a bi-exponential function, representing two parallel absorption processes. Modeling of covariate effects resulted in a significant relationship ($P < 0.01$, $\Delta\text{OFV} = 8.91$) between age and ka . The model predicted ka to change by approximately 3.0 % for each 1-yr difference from the median (62 yr, range: 45 – 74 yr). Likewise, apparent volume of distribution (V/F) was significantly ($P < 0.01$, $\Delta\text{OFV} = 11.4$) affected by body weight, which accounted for approximately 1.4 % changes for each kg difference from the median weight (86.6 kg, range: 56.2 – 117.4 kg). Parameter estimates for the final population pharmacokinetic model are presented in table 2.

Pharmacodynamic data analysis

The effect of ropivacaine on ice-cold sensation and sensory thresholds after a femoral nerve block in orthopedic patients is presented in figure 4. There was a wide range in the observed maximal intensity for CPT ($680 \pm 630 \mu\text{A}$, $n = 13$) and PPT ($8.35 \pm 0.09 \text{ mA}$, censored in two out of three patients) measurements, with an approximate 6 folds increase from mean CPT baseline value ($102 \pm 88 \mu\text{A}$). Ropivacaine maximal response on sensory threshold was observed within 22 ± 13 min of dosing, with a subsequent

return to baseline at 29.6 ± 4.3 h. The increase and decrease in electrical stimulus threshold closely paralleled the time-course of loss and recovery of ice-cold sensation, respectively.

The results of the pharmacodynamic analysis are summarized in table 3. Ropivacaine-induced effect on sensory thresholds was characterized by a temporal delay relative to its amount in the depot compartment (fig. 4, *left* panel). As shown in figure 5 (*right* panel), the counterclockwise hysteresis was successfully minimized by the link model. The likelihood based method tested for handling censored data did not further improve the model fit (data not shown). Therefore, estimated PPTs above the device cut-off were discarded from data analysis. For the binary response to ice-cold testing, a time-increasing hazard ($\alpha > 1$) was fitted to the time-course of loss ($\alpha = 1.55$) and recovery ($\alpha = 3.77$) of ice-cold sensation. Attempts were made to link this response to effect-site without any improvement in the model fit. None of the pharmacodynamic model parameters showed age, body weight or sex dependency.

Model evaluation

Best, median, and worst individual fits of the final pharmacodynamic model are given in figure 6. The final PD model adequately described the overall time-course of ropivacaine-effect data (see also visual predictive check in fig. 7). Simulation of the normalized PK-PD relationship of ropivacaine after a femoral nerve block in orthopedic patients is presented in figure 8. As shown in this figure, the effect-site amount producing a maximal possible effect varied from approximately 5 to 30 mg.

Predicted and observed ropivacaine plasma concentrations obtained from the external validation are plotted *vs* time in figure 9. The population pharmacokinetic model adequately described ropivacaine plasma concentrations in the validation patients, with an overall mean bias of -0.080 $\mu\text{g/mL}$ (95% CI: $-0.209 - 0.048$) that was not statistically different from zero ($p = 0.221$). The overall precision was 0.440 $\mu\text{g/mL}$ (95% CI: $0.341 - 0.539$).

Discussion

A population PK-PD model was developed to characterize the anesthetic effect of ropivacaine after a femoral nerve block in orthopedic patients. Taking into account the effect of age and body weight on the absorption and distribution of the local anesthetic, the proposed model adequately describes the time course of sensory blockade after a single-dose injection.

We previously established the pharmacokinetic model describing the complex systemic absorption of ropivacaine after a femoral nerve block in 15 orthopedic patients.⁵ With the use of extended rich pharmacokinetic samplings and IV data,¹² the biphasic release of the local anesthetic from its injection site was revealed by deconvolution.¹³ A combination of inverse Gaussian and time-dependent inputs, roughly representing respectively the absorption from the interstitial fluid and surrounding fatty tissues, was used to describe the fast and slow release of the agent from its perineural site of injection. This approach provided empirical Bayesian estimates of the individual rates of systemic absorption that were subsequently used in the current PK-PD analysis.

A significant relationship between age and ka was previously identified⁵ and confirmed. The increased permeability caused by the age-related deterioration of the myelin sheaths and surrounding tissues at the site of injection¹⁴ may have accelerated the slow component of the local anesthetic release into the systemic circulation. Similarly, a significant relationship between BW and V/F was confirmed. The relatively high lipid solubility of ropivacaine and the presence of fatty tissues nearby the femoral nerve may have contributed to the observed increase in V/F in our overweight patients.

The population pharmacokinetic model was externally validated using retrospective data¹¹ that were not used for model building, which is considered to be the most rigorous validation method.¹⁵ In these patients, 30 mL of ropivacaine hydrochloride 0.5% plus epinephrine 1:200,000 followed by an infusion of ropivacaine hydrochloride 0.2% at 12 mL.h⁻¹ for 48 h was administered by a three-in-one femoral technique. Predicted ropivacaine plasma concentrations obtained from the final model agreed with levels

observed in that study without significant bias, suggesting that the population pharmacokinetic model can be used to simulate different dosing regimens.

We have previously shown that CPT measurements can be applied to characterize, in a quantitative manner, the sensory onset of a peripheral nerve block in orthopedic patients (unpublished data). Results obtained herein further support our findings where a mean 4 fold increase over baseline values ($102 \pm 88 \mu\text{A}$, $n = 13$) was observed for CPTs during recovery. This is approximately 30 times the variability observed in the control leg ($\text{SEM}_{\text{CV}} \sim 13.5\%$), allowing a good discrimination between the sensory response to ropivacaine and baseline noise.

Of interest, an overall good agreement was found between the responses to transcutaneous electrical stimulation and ice-cold testing. The mean time from injection to maximal ropivacaine-induced effect on CPTs was within 22 min, with a subsequent return to baseline 30 h thereafter. These results are in accordance with Beaulieu et al who reported similar time-course of loss and recovery of ice-cold sensation (onset: ~ 16 min, duration: ~ 26 h) after a combined sciatic (15 mL) and femoral (25 mL) nerve block using ropivacaine hydrochloride 0.5 % in orthopedic patients ($n = 25$).¹⁶

Examination of CPT measurements obtained on the untreated leg showed almost unchanged CPTs, thereby confirming that the sedative effect of opioids does not appear to interfere at 5 Hz. This finding is in agreement with Liu et al¹⁷ who reported that perception threshold to 5 Hz was not changed at dermatome L2 by either epidural or IV fentanyl administration in eight healthy volunteers.

PPT measurements had to be used as a rescue pharmacodynamic endpoint to quantitatively assess femoral nerve block in some patients (3 out 13) who experienced a successful sensory block (as confirmed by loss of cold sensation) without any concomitant change in CPT response. This discrepancy between the biomarker and the clinical endpoint may result from differences in anatomic distribution of the femoral nerve.¹⁸ Indeed, standardized positioning of electrodes may have prevented us from capturing the full magnitude of the anesthetic effect in those patients, also contributing to the observed variability in maximal CPT response. Furthermore, the ice-cold test

produces a weak stimulus that is blocked more easily than stronger stimuli.¹⁹ This may explain why the estimated λ_{loss} (3.30 h^{-1}) was significantly faster than $ke0$ (1.20 h^{-1}). Therefore, the perception of weak stimuli may be blocked regardless of strength of ropivacaine exposure.

CPTs were chosen instead of PPTs mostly because of the relatively fast onset of sensory blockade expected to occur after a femoral nerve block. The intensity at which the stimulus begins to evoke pain will not only take a longer time, but is also expected to be censored at ropivacaine maximal effect, resulting in the loss of clinically important information. A likelihood based approach was tried to handle data above the security threshold obtained in two patients. This method, however, was not retained as it did not further improve the model fit, most likely because of the small proportion of censored data.

The PK-PD relationship of the quantitative biomarker was modeled according to a sigmoid E_{max} model, thereby providing a meaningful pharmacodynamic estimate of AE_{50} . The amount in the depot compartment was indirectly derived from the biphasic rate of systemic absorption of ropivacaine and the equilibrium rate constant ($ke0$) between the depot and hypothetical effect-site. Typical population estimate for AE_{50} was 13.4 mg, which is pharmacologically reasonable given the mean ED_{50} reported for epidural ropivacaine analgesia in laboring women (15.3: 13.7 – 17.1 mg).²⁰ For $ke0$, we found a longer mean half-life than that reported for epidural anesthesia (34 vs. 9 min, respectively).²¹ In view of the high density of tissues in the femoral area, a lower rate of lateral diffusion of the local anesthetic is expected compared to epidural administration. In addition, non-specific uptake of the local anesthetic in fatty tissues adjacent to the femoral nerve may have lowered perineural concentrations, thereby decreasing the concentration gradient and, in turn, the passive diffusion of the agent through the nerve sheath. Finally, the heterogeneous nature of the tissues surrounding the femoral nerve may also have contributed to the relatively high interindividual variability observed for $ke0$ (approximately 52 %; table 2).

In contrast to previous findings where a significant correlation between onset time and weight was found after neural blockade,²² none of the pharmacodynamic parameters

showed age, body weight or sex dependency. It cannot be excluded that, in a larger sample size, the effect of these demographic factors on various component of neural blockade could be reproduced. The relatively homogenous group of patients used in our study may also have contributed to this apparent discrepancy. Given that, the model should be used within the context of the data and any extrapolation should be done with caution. Another potential limitation of the current analysis is the underlying assumption of a complete bioavailability of the injected solution. As the concentration at the injection site was not measured, the time-course of the amount of local anesthetic in the depot relies entirely on our model. All these factors have to be taken into account during the interpretation of the estimated AE_{50} .

Results obtained from the current PK-PD analysis suggest that the effect-site amount required for producing 90% of the maximum possible effect is approximately 20 mg (fig. 8). Considering that dose is the primary determinant of the analgesic effect during a perineural infusion,²³ one can use the model developed herein to simulate the minimal infusion rate required to maintain an amount of ropivacaine at the effect-site corresponding to $2 \times AE_{90}$. Results from the simulation study (see appendix) suggest that following a bolus dose of 100 mg, the infusion rate of ropivacaine hydrochloride 0.2 % should be of at least $3 \text{ mL}\cdot\text{h}^{-1}$ during 48 h to maintain a complete sensory block. This estimate is similar to that reported by Zaric et al,²⁴ who used ropivacaine hydrochloride 0.2 % at a rate of $5 \text{ mL}\cdot\text{h}^{-1}$ to reach an effective sciatic nerve block in sixty orthopedic patients. Further clinical studies will be needed to validate the clinical relevance of this finding.

Conclusions

In conclusion, a population PK-PD model that quantitatively describes the sensory component of a femoral nerve block in orthopedic patients was developed. This model may be used to predict the time course of sensory blockade and optimize dosing regimen.

Acknowledgements

This research program was supported by the Canadian Institutes for Health Research (MOP-84519) and by the Fonds de la Recherche en Santé du Québec (F.Gaudreault's studentship). The authors are grateful to Johanne Couture and Isabelle Beaudoin from Université de Montréal and Nadia Godin from Hôpital Maisonneuve-Rosemont for their technical support. We also want to thank Dr. Louis-Philippe Fortier, Dr. Issam Tanoubi and Dr. Bruno Petit at Hôpital Maisonneuve-Rosemont for their precious collaboration.

APPENDIX

Simulation Study – Identification of the minimal effective infusion rate

Although ropivacaine hydrochloride 0.2 % is frequently used for post-operative analgesia, the optimal dosing regimen via a femoral nerve catheter has never been determined empirically.²⁵ Current reports on ropivacaine infusion regimens propose ranges varying from 5 to 12 ml.h⁻¹, with a loading dose varying between 100 – 225 mg.^{11,24,26} To further evaluate the minimal effective dose, we performed a simulation study in which we generated 1,000 replicates using the final population PK-PD model at different dosing strategies (combination of 100 mg bolus dose and 48 h basal infusion rate varying from 1 to 10 ml.h⁻¹). These dataset were then analyzed and compared by calculating the 5th, 50th and 95th percentile of the maximum possible effect vs. time profiles. Results obtained are depicted in figure 9, suggesting that 0.2 % ropivacaine hydrochloride infusion rate should be of at least 3 mL.h⁻¹ for 48 h when following a single bolus dose of 100 mg. This result is in agreement with Zaric et al,²⁴ who reported a similar infusion rate (5 ml.h⁻¹) for 0.2 % ropivacaine hydrochloride during a sciatic nerve block in orthopedic patients.

References

1. Paul JE, Arya A, Hurlburt L, Cheng J, Thabane L, Tidy A, Murthy Y: Femoral nerve block improves analgesia outcomes after total knee arthroplasty: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Anesthesiology* 2010; 113: 1144-62
2. Mather L, Tucker G: Properties, Absorption and Disposition of Local Anesthetic Agents, Neural Blockade In Clinical Anesthesia and Pain Medicine, 4 edition. Edited by Cousins M, Bridenbaugh P, Carr D, Horlocker T. New York, Lippincott Williams & Wilkins, 2009, pp 48-96
3. Liu S, Kopacz DJ, Carpenter RL: Quantitative assessment of differential sensory nerve block after lidocaine spinal anesthesia. *Anesthesiology* 1995; 82: 60-3
4. Tay B, Wallace MS, Irving G: Quantitative assessment of differential sensory blockade after lumbar epidural lidocaine. *Anesth Analg* 1997; 84: 1071-5
5. Gaudreault F, Drolet P, Fallaha M, Varin F: A population pharmacokinetic model for the complex systemic absorption of ropivacaine after femoral nerve block in patients undergoing knee surgery. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2012; 39: 635-42
6. Gaudreault F, Drolet P, Varin F: High-performance liquid chromatography using UV detection for the simultaneous quantification of ropivacaine and bupivacaine in human plasma. *Ther Drug Monit* 2009; 31: 753-7
7. Katims JJ: Electrodiagnostic functional sensory evaluation of the patient with pain: a review of the neuroselective current perception threshold and pain tolerance threshold. *Pain Digest* 1998; 8: 219-230
8. Karlsson KE, Plan EL, Karlsson MO: Performance of three estimation methods in repeated time-to-event modeling. *AAPS J* 2011; 13: 83-91
9. Beal S, Sheiner, L.B., Boeckmann, A., Bauer, R.J.: NONMEM User's Guides. Icon Development Solutions, Ellicott City, MD, USA, 2009 1989-2009
10. Ahn JE, Karlsson MO, Dunne A, Ludden TM: Likelihood based approaches to handling data below the quantification limit using NONMEM VI. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2008; 35: 401-21
11. Kaloul I, Guay J, Cote C, Halwagi A, Varin F: Ropivacaine plasma concentrations are similar during continuous lumbar plexus blockade using the anterior

- three-in-one and the posterior psoas compartment techniques. *Can J Anaesth* 2004; 51: 52-6
12. Simon MJ, Veering BT, Vletter AA, Stienstra R, van Kleef JW, Burm AG: The effect of age on the systemic absorption and systemic disposition of ropivacaine after epidural administration. *Anesth Analg* 2006; 102: 276-82
 13. Vaughan DP, Dennis M: Mathematical basis and generalization of the Loo-Riegelman method for the determination of in vivo drug absorption. *J Pharmacokinet Biopharm* 1980; 8: 83-98
 14. Sadean MR, Glass PS: Pharmacokinetics in the elderly. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2003; 17: 191-205
 15. Han K, Bies R, Johnson H, Capitano B, Venkataramanan R: Population pharmacokinetic evaluation with external validation and Bayesian estimator of voriconazole in liver transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 2011; 50: 201-14
 16. Beaulieu P, Babin D, Hemmerling T: The pharmacodynamics of ropivacaine and bupivacaine in combined sciatic and femoral nerve blocks for total knee arthroplasty. *Anesth Analg* 2006; 103: 768-74
 17. Liu SS, Gerancher JC, Bainton BG, Kopacz DJ, Carpenter RL: The effects of electrical stimulation at different frequencies on perception and pain in human volunteers: epidural versus intravenous administration of fentanyl. *Anesth Analg* 1996; 82: 98-102
 18. Jochum D, O'Neill T, Jabbour H, Diarra PD, Cuignet-Pourel E, Bouaziz H: Evaluation of femoral nerve blockade following inguinal paravascular block of Winnie: are there still lessons to be learnt? *Anaesthesia* 2005; 60: 974-7
 19. Curatolo M, Petersen-Felix S, Arendt-Nielsen L, Fischer M, Zbinden AM: Temporal summation during extradural anaesthesia. *Br J Anaesth* 1995; 75: 634-5
 20. Ngan Kee WD, Ng FF, Khaw KS, Lee A, Gin T: Determination and comparison of graded dose-response curves for epidural bupivacaine and ropivacaine for analgesia in laboring nulliparous women. *Anesthesiology* 2010; 113: 445-53
 21. Olofsen E, Burm AG, Simon MJ, Veering BT, van Kleef JW, Dahan A: Population pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of epidural anesthesia. *Anesthesiology* 2008; 109: 664-74

22. Schnider TW, Minto CF, Bruckert H, Mandema JW: Population pharmacodynamic modeling and covariate detection for central neural blockade. *Anesthesiology* 1996; 85: 502-12
23. Ilfeld BM, Moeller LK, Mariano ER, Loland VJ, Stevens-Lapsley JE, Fleisher AS, Girard PJ, Donohue MC, Ferguson EJ, Ball ST: Continuous peripheral nerve blocks: is local anesthetic dose the only factor, or do concentration and volume influence infusion effects as well? *Anesthesiology* 2010; 112: 347-54
24. Zaric D, Boysen K, Christiansen C, Christiansen J, Stephensen S, Christensen B: A comparison of epidural analgesia with combined continuous femoral-sciatic nerve blocks after total knee replacement. *Anesth Analg* 2006; 102: 1240-6
25. Brodner G, Buerkle H, Van Aken H, Lambert R, Schweppe-Hartenauer ML, Wempe C, Gogarten W: Postoperative analgesia after knee surgery: a comparison of three different concentrations of ropivacaine for continuous femoral nerve blockade. *Anesth Analg* 2007; 105: 256-62
26. Pham Dang C, Gautheron E, Guilley J, Fernandez M, Waast D, Volteau C, Nguyen JM, Pinaud M: The value of adding sciatic block to continuous femoral block for analgesia after total knee replacement. *Reg Anesth Pain Med* 2005; 30: 128-33

Tables

Table 1. Characteristics of the study population

	Pharmacokinetics	Pharmacodynamics
n	19	16
Sex (M / F)	5 / 14	4 / 12
Age, yr	62.4 ± 6.6	62.6 ± 7.1
Weight, kg	87.7 ± 16.8	84.9 ± 16.5
Height, cm	166.6 ± 10.7	166.3 ± 11.3
BMI, kg/m ²	31.7 ± 5.8	30.6 ± 5.0
Surgical site (L / R)	11 / 8	9 / 7

Values are mean ± SD

BMI = body mass index

Table 2. Population Pharmacokinetic Model Parameters

Parameters ^a	Population estimates (SE %) ^b	95% CI ^c of population estimate	BSV ^d (CV%) ^e (SE %) ^b	95% CI ^c of BSV ^d (CV%) ^e
<i>Cl/F</i> (L/h)	9.71 (7.75)	8.32 – 10.9	30.8 (14.1)	21.2 – 36.2
<i>k_a</i> (h ⁻¹)	0.264 (28.8)	0.142 – 0.686	24.0 (32.1)	5.6 – 33.9
AGE on <i>k_a</i> ^f	1.87 (31.1)	0.41 – 4.20		
<i>V/F</i> (L)	74.6 (9.06)	39.1 – 83.2	23.4 (20.4)	11.7 – 32.7
BW on <i>V/F</i> ^g	1.23 (22.1)	0.72 – 1.91	-	-
T ₋₅₀ (h)	24.0 (11.5)	19.2 – 33.0	-	-
<i>MAT</i> (h)	0.471 (17.9)	0.352 – 0.623	58.2 (17.5)	35.7 – 73.0
<i>VAR</i> (%)	1.15 (6.21)	0.981 – 1.29	-	-
<i>F_{fast}</i>	0.425 (12.7)	0.246 – 0.524	-	-
Proportional residual variability (CV%) ^d	20.9 (9.27)	18.5 – 24.5	-	-

Abbreviations: *Cl/F*= Apparent clearance; *k_a* = first-order absorption rate constant; *V/F*= Apparent volume of distribution; BW = Total body weight; T₋₅₀ = Time required to achieve 50 % of the maximum input rate; *MAT*= Mean Absorption Time; *VAR* = Normalized variance of the Gaussian distribution used to characterize the input rate; *F_{fast}* = Fraction of the dose absorbed.

^a Dose in equivalent base (88.3 mg)

^b Standard error estimated by the covariance step in NONMEM expressed as percent.

^c 95% confidence interval. The lower and upper limits for 95% were calculated using the bootstrap.

^d Between subject variability, calculated as (variance)^{1/2}*100%.

^e CV%:Coefficient of variation expressed as percent.

$$^f k_a = \left(\frac{age}{62}\right)^{1.57}$$

$$^g V/F = \left(\frac{BW}{91}\right)^{1.36}$$

Table 3. Population Pharmacodynamic Model Parameters

Parameters ^a	Population estimates (SE %) ^b	95% CI ^c of population estimate	BSV ^d (CV%) ^e (SE %) ^b	95% CI ^c of BSV ^d (CV%) ^e
Biomarker (CPT and PPT measurements)				
E_0 (uA)	77.0 (15.1)	54.7 – 111	59.0 (18.3)	31.8 – 76.2
Method ^f on E_0	18.5 (30.8)	9.69 – 34.1	-	-
E_{max} (uA)	460 (18.8)	329 – 772	57.9 (34.8)	17.6 – 89.9
Method ^g on E_{max}	26.3 (20.8)	18.2 – 42.4	-	-
AE_{50} (mg)	13.4 (11.8)	10.9 – 20.4	49.1 (24.1)	24.3 – 75.0
γ	8.68 (18.3)	4.11 – 15.1	48.3 (19.5)	23.5 – 64.8
$ke0$ (h ⁻¹)	1.20 (14.3)	0.838 – 2.25	51.6 (21.1)	19.3 – 78.4
σ^2 (CV%) ^d	28.1 (12.8)	20.5 – 35.5	-	-
Clinical endpoint (loss and recovery of ice-cold sensation)				
λ_{loss} (h ⁻¹)	0.06 (20.6)	-	-	-
α_{loss}	1.55 (17.1)	-	-	-
$\lambda_{recovery}$ (h ⁻¹)	0.04 (9.85)	-	-	-
$\alpha_{recovery}$	3.77 (56.9)	-	-	-

Abbreviations: CPT = current perception threshold; PPT = Pain Perception Threshold; E_0 = Current intensity before the administration of ropivacaine; E_{max} = Current intensity at maximum ropivacaine-induced effect; AE_{50} = Effect-site amount corresponding to 50% of E_{max} ; γ = Shape parameter; $ke0$ = First-order equilibrium rate constant; σ^2 = Residual variability (constant in the log-domain); λ = first-order rate constant; α = shape parameter for the hazard.

^a Dose in equivalent base (88.3 mg)

^b Standard error estimated by the covariance step in NONMEM expressed as percent

^c 95% confidence interval (using bootstrap)

^d Between subject variability, calculated as (variance)^{1/2}*100%

^e Coefficient of variation expressed as percent (in the log-domain)

^f E_0 = population estimate * 18.5 (when PPT measurements are used)

^g E_{max} = population estimate * 26.3 (when PPT measurements are used)

Figures

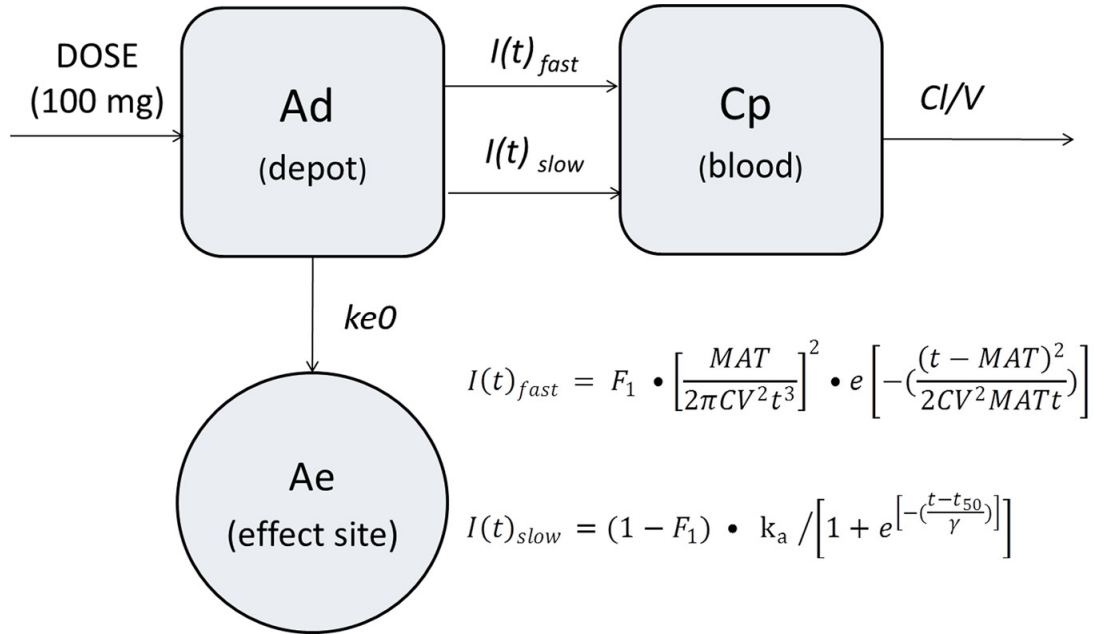


Fig. 1. Schematic representation of the PK-PD model used to describe the effect of ropivacaine on current perception and pain thresholds after a femoral nerve block in orthopedic patients. F_1 = fraction estimated for the fast input; t = time after dosing; MAT = mean absorption time for the fast input rate; CV^2 = variance of the input time distribution; ka = first-order absorption rate constant; t_{50} = time to achieve 50% of the maximum input rate; Cl = clearance; V = volume of distribution; $ke0$ = first-order depot-effect site equilibrium rate constant; **Ad** = amount in the depot compartment; **Cp** = ropivacaine plasma concentrations; **Ae** = amount in the effect-site compartment.

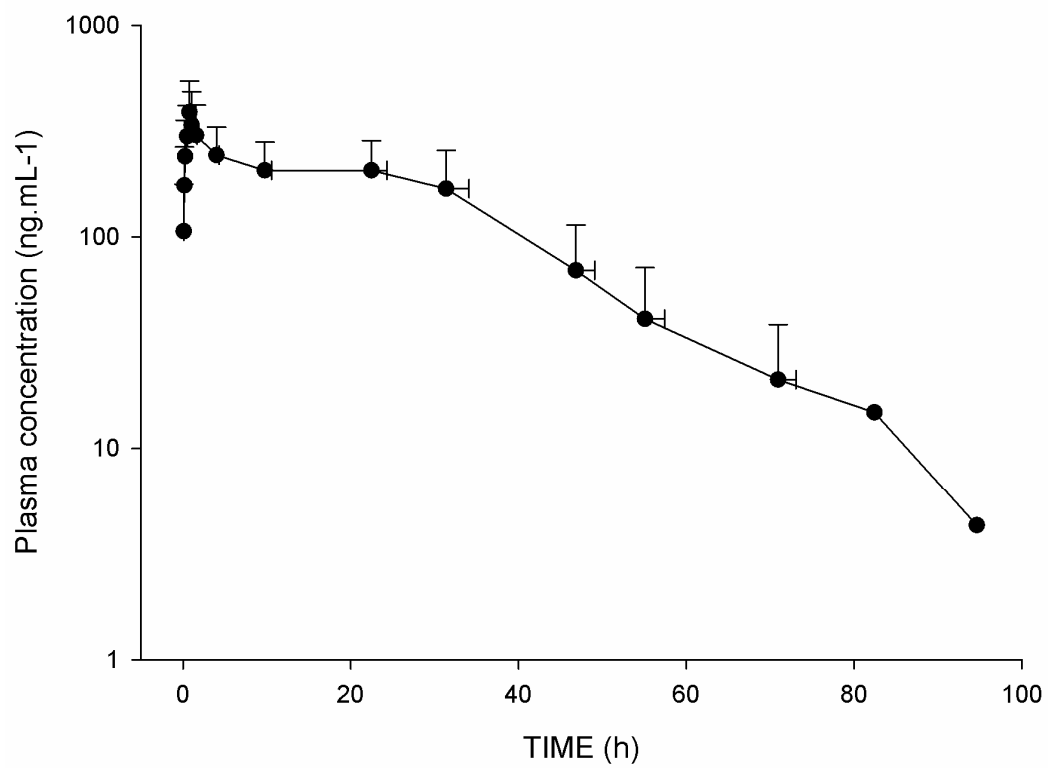


Fig. 2. Observed total ropivacaine plasma concentration vs. time profiles obtained after a femoral nerve block (dose = 100 mg) in orthopedic patients (n = 19). Values are mean \pm SD.

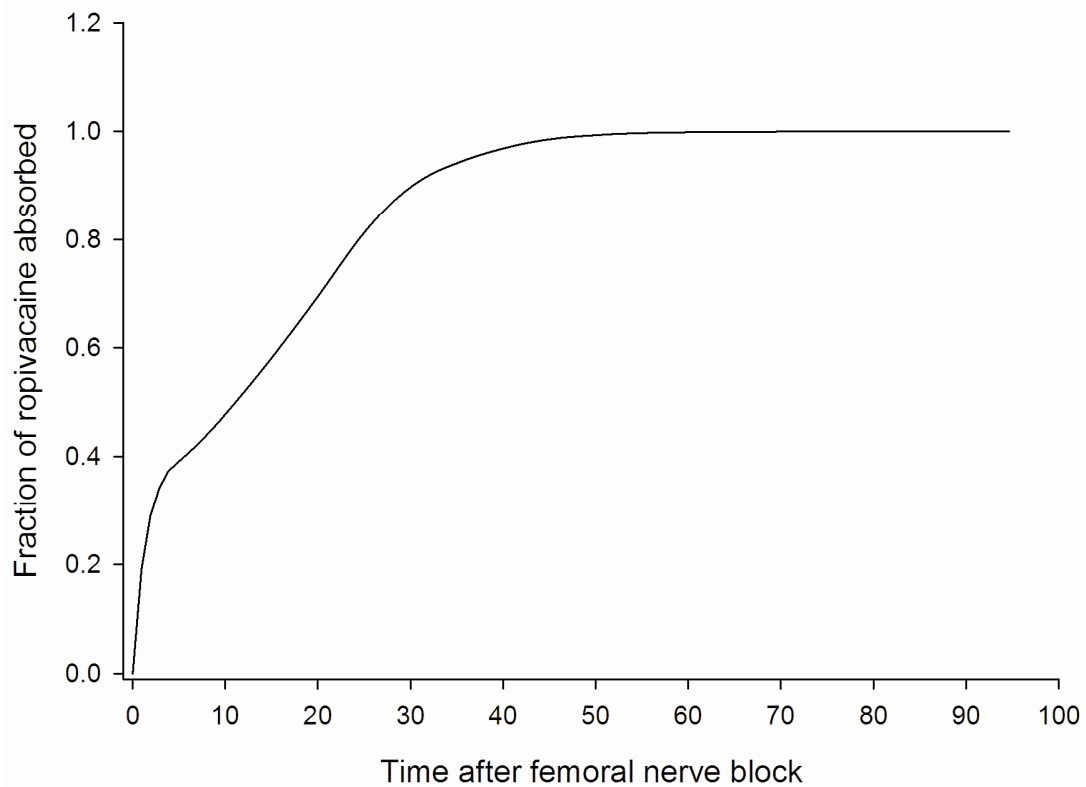


Fig. 3. Cumulative fractions absorbed of ropivacaine versus time in the population typical profile. Absorption-time data were obtained by deconvolution of the ropivacaine plasma concentrations-time data against the IV unit impulse-response curve, derived from IV data reported in the literature.¹²

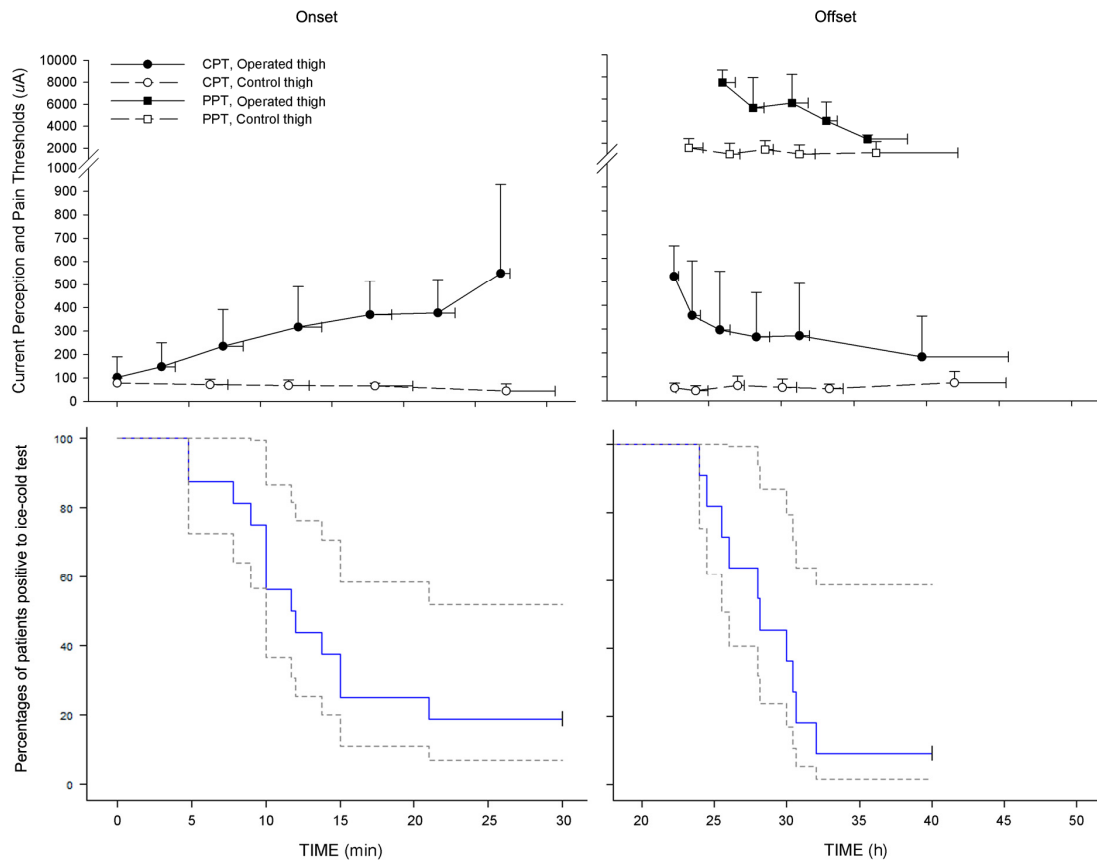


Fig. 4. Pharmacodynamic and clinical endpoints during the onset (*left panels*) and offset (*right panels*) of sensory nerve blockade after a single bolus dose (100 mg). Current perception (CPT; circles, $n = 13$) and pain perception (PPT; squares, $n = 3$) thresholds over the middle anteromedial aspect of the operated (*thick lines*) and control (*broken lines*) thighs (*top*). Values are mean \pm SD. Ice-cold testing (*bottom*). Kaplan-Meier plots describing the probability of not having an event (loss or recovery of cold sensation) \pm 95% confidence intervals (*broken lines*).

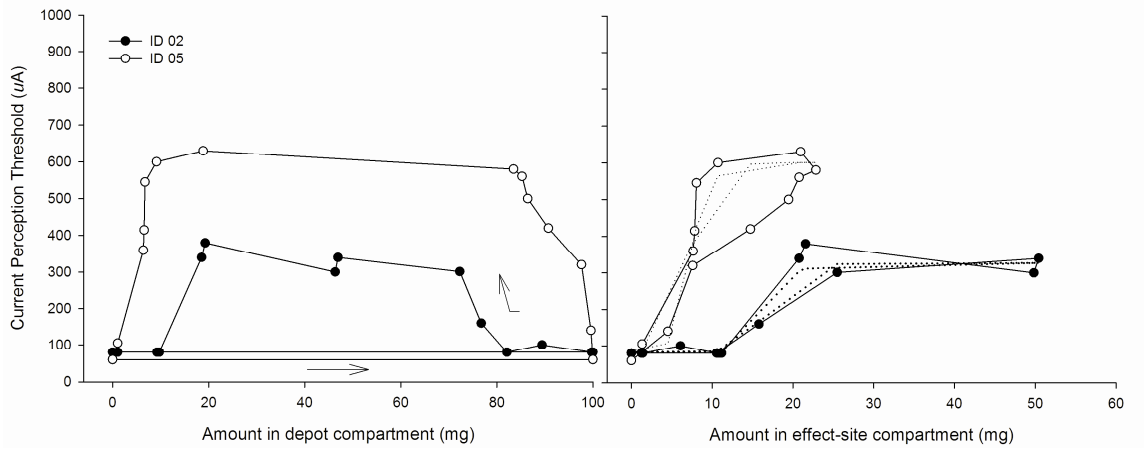


Fig. 5. Temporal delay of the current perception threshold (CPT) in two representative patients having received a single injection (20 mL) of ropivacaine 0.5 % for femoral nerve block. Counterclockwise hysteresis loop of the estimated amount in the depot compartment vs. CPTs (*full lines; left panel*). The arrows indicate the time course. Corresponding CPT *versus* estimated effect-site ropivacaine amount and model fit (*broken line; right panel*).

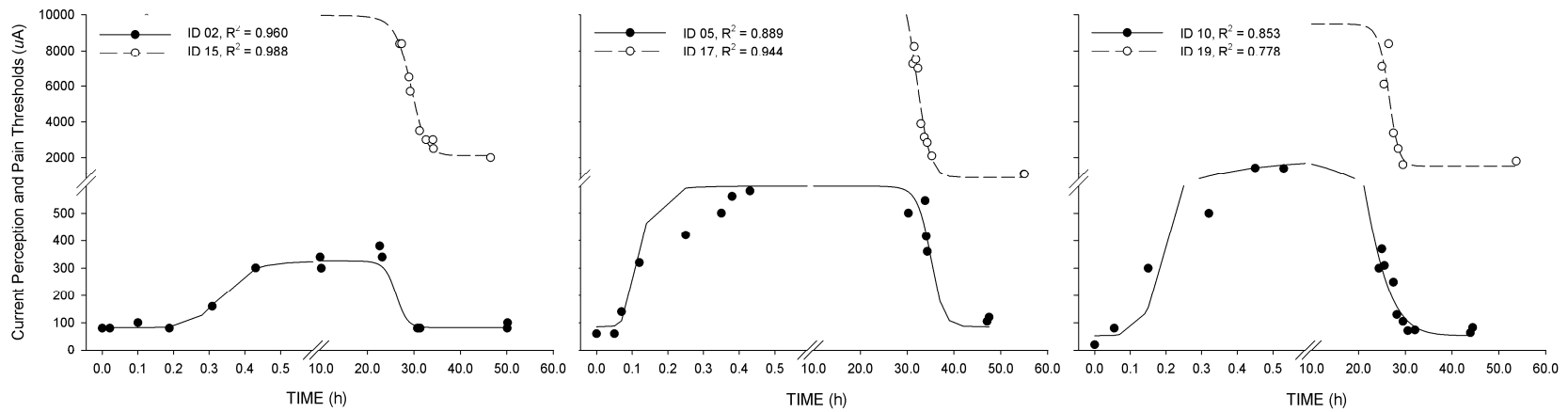


Fig. 6. Best, median and worst model fits (*left, middle and right* panels, respectively) according to the coefficient of determination (R^2) for the time-course of current perception (CPT, ●) and pain (PPT, ○) thresholds. The *dots* represent the measured sensory thresholds (in μA). The *lines* are the data fits.

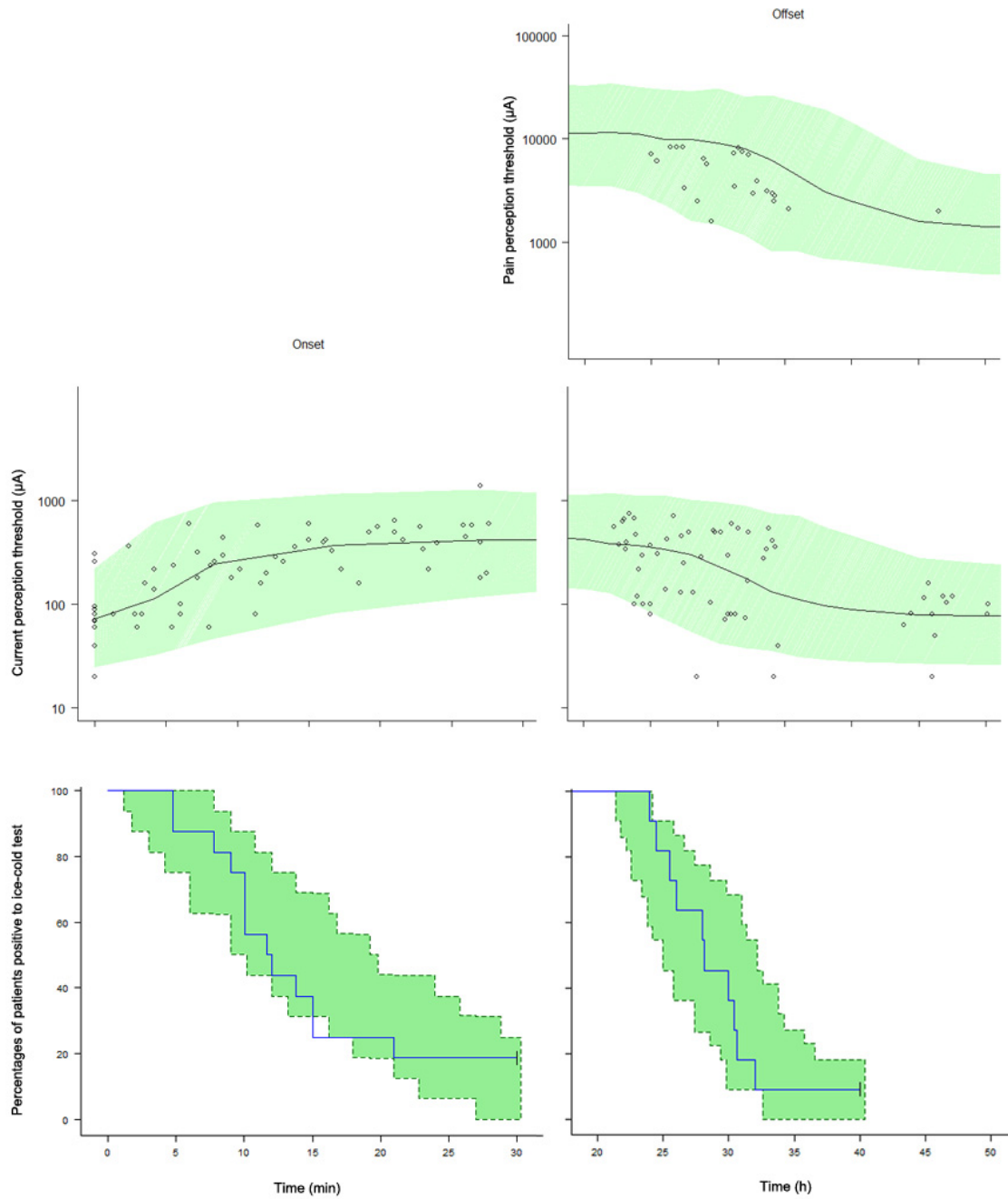


Fig. 7. Visual predictive checks of the time-course of ropivacaine effect on pain perception (PPT, *top* panel) and current perception (CPT, *middle* panels) thresholds and ice-cold testing (*bottom* panels) during the onset (*left* panels) and offset (*right* panels). The circles and blue lines represent the observations, the shaded areas represent the 95 % confidence intervals of the model simulations (N = 1,000) and the solid black line depicts the median profile.

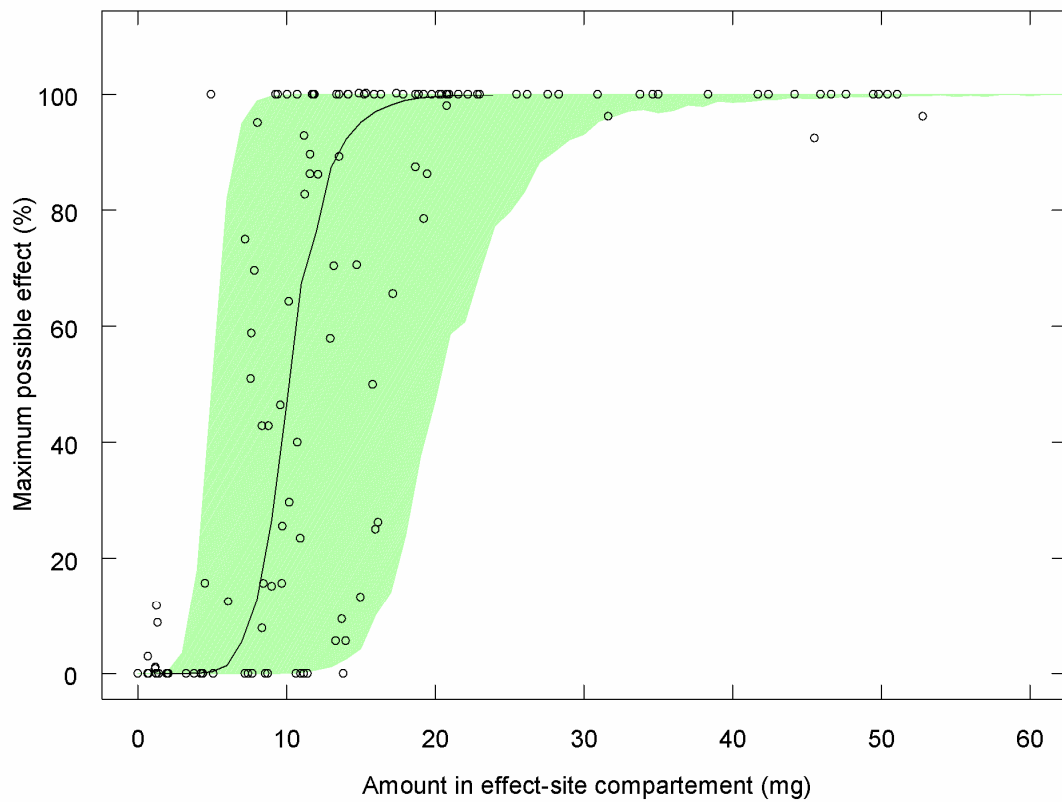


Fig. 8. Visual predictive check of the maximum possible effect (% MPE) vs. amount in the effect-site compartment. The circles represent the observations, the shaded areas represent the 95 % confidence intervals of the model simulations (N = 1,000) and the solid black line depicts the median profile.

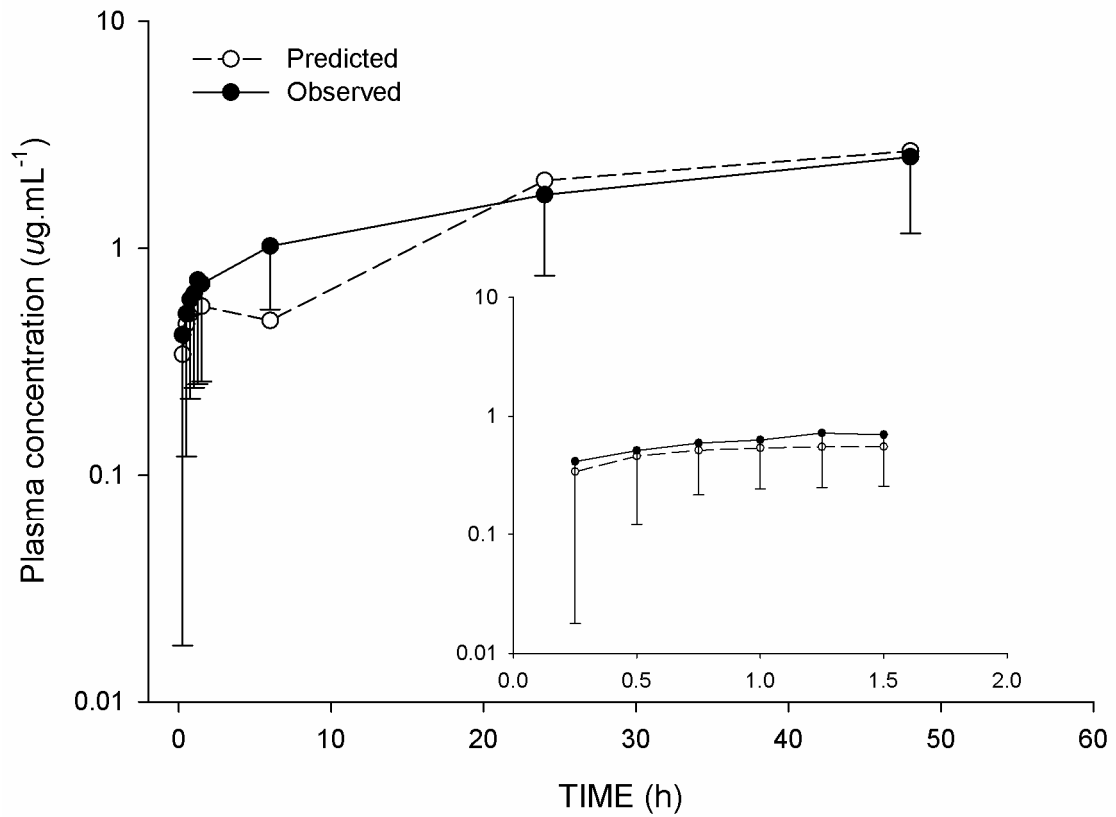


Fig. 9 . Mean predicted (—○—) and observed (—●—, moy. ± SD) plasma ropivacaine concentrations vs. time profiles using our population model parameters and the data used for external validation (Kaloul et al.).¹³

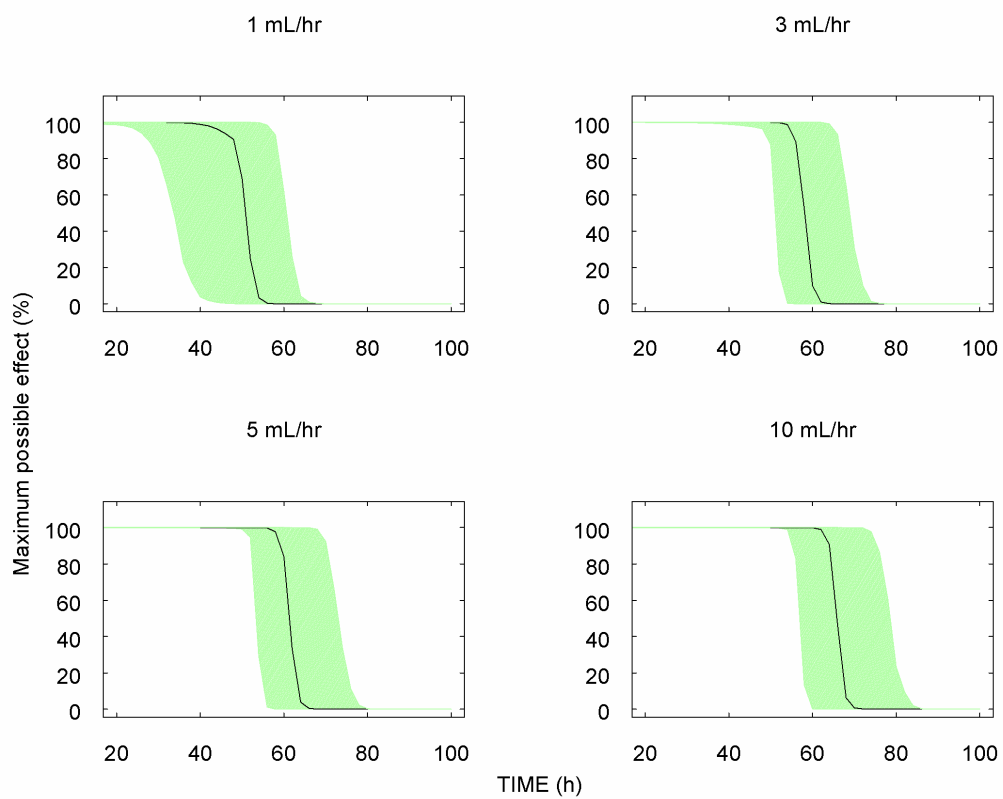


Fig. 10. Simulation analysis using the final PK-PD model at different dosing regimen (1-, 3-, 5- and 10 ml.h⁻¹ of ropivacaine 0.2 % for 48 h after a single bolus dose of 100 mg). The shaded areas represent the 95 % confidence intervals of the model simulations (N = 1,000) and the solid black line depicts the median profile.

CHAPITRE 8: Population PK-PD modeling of intrathecal ropivacaine in patients undergoing lower limb surgery

François Gaudreault, BSc¹, Pierre Drolet, MD², Michel Fallaha, MD³ and France Varin, BPharm, PhD^{1*}.

¹Faculté de pharmacie, Université de Montréal, 2900 boul. Edouard Montpetit, Succursale Centre-ville, Montréal (Québec), Canada H3T 1J4.

²Département d'anesthésie-réanimation et de ³chirurgie orthopédique, Hôpital Maisonneuve-Rosemont, 5415 boul. De l'Assomption, Montréal (Québec), Canada, H1T 2M4

*Corresponding author

Key words: Pharmacokinetics, pharmacodynamics, ropivacaine, spinal anesthesia, current perception thresholds, orthopedic patient

Current Status: To be submitted.

Abstract

Background: Spinal ropivacaine has been shown to provide effective anesthesia and pain relief in surgical outpatients, but is currently not licensed in many countries for intrathecal use. This study was designed to develop a population pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK-PD) model aimed at optimizing the clinical use of this drug.

Methods: Ropivacaine hydrochloride (17.5 mg) was administered intrathecally (L2-L3) to 15 orthopedic patients. Current perception thresholds (CPT) in response to a gradual increase in transcutaneous electrical stimulation (primary endpoint) as well as clinical assessments (sensory and motor blockade) were performed over the thigh (L2-L3) while ropivacaine plasma concentrations were determined up to 24 h post-dosing. Two parallel first-order absorption rate constants were used to characterize the biphasic release of ropivacaine from its site of injection (depot compartment). An equilibrium rate constant (ke_0) between the depot and virtual effect compartments was added. Effect compartment concentrations were fitted to the concomitantly acquired CPT data using a sigmoid Emax model and NONMEM.

Results: Ropivacaine maximal response (E_{max} : 2.1 ± 0.9 mA) was within 11.6 ± 3.5 min of dosing, with a subsequent return to baseline (E_0 : 0.11 ± 0.01 μ A) 210 ± 55 min thereafter. Mean effect compartment equilibrium half-life ($T_{1/2}$, ke_0) was 14.2 ± 2.6 min. The effect-site amount producing 50 % of the E_{max} (AE_{50}) was 7.3 ± 2.3 mg. None of the model parameters, including clearance (14.7 ± 1.5 L.h⁻¹) and volume of distribution (70.2 ± 4.3 L) showed age, height or body weight dependency.

Conclusions: A population PK-PD model was developed that quantitatively describes the time-course of sensory blockade during intrathecal anesthesia in orthopedic patients. The model may be useful to predict the time-course of sensory blockade and to optimize ropivacaine dosages according to the intensity and duration of the surgical procedure.

Introduction

The efficacy of ropivacaine in providing a profound sensory and motor block suitable for surgical anesthesia when administered intrathecally is well established.¹ Most studies have focused on safety and dose-finding issues and, until now, none examined the pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK-PD) relationships of ropivacaine following spinal anesthesia. Compared with bupivacaine, ropivacaine is marketed as a pure enantiomer and has markedly lower lipid solubility which contributes to a significant improvement in its safety profile.² The lower liposolubility of ropivacaine also reduces motor nerve fiber penetration, resulting in a greater differential block between its sensory and motor components at lower dose.³ This may offer considerable clinical advantages in the ambulatory setting, where both a sensory and motor blockade of adequate duration for the procedure as well as a fast regression of the motor block to assist mobilisation are required.⁴ Despite this, ropivacaine is not licensed for intrathecal administration in many countries..

Recently, we developed a population PK-PD model that describes the extent of sensory anesthesia after a femoral nerve block in orthopedic patients.⁵ We used the current perception threshold (CPT) in response to a gradual increase in transcutaneous electrical stimulation to quantitatively assess the pharmacodynamic effect of ropivacaine. CPTs were simultaneously linked to the amount remaining at the site of injection, the latter being predicted from a validated pharmacokinetic model.⁶ In the current study, we used a similar approach to characterise the PK-PD relationship of intrathecally administered ropivacaine in patients undergoing lower limb surgery. Our objective was to develop a model to help optimize the clinical use of this drug.

Materials and methods

Subjects

Since ropivacaine is not approved for spinal use in North America, a non-objection letter (NOL # 9427-U0190-26C) was first obtained from Health Canada prior to the

initiation of the clinical study (CTA # 133457). The study was approved by the institutional Research Ethics Board (*Comité d'éthique de la recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont*, Montreal, Canada) and written informed consent obtained from each patient. Fifteen (15) American Society of Anesthesiologists (ASA) physical status I-II patients scheduled to undergo a minor lower limb surgery under spinal anesthesia were enrolled in the study. Exclusion criteria were: age <18 yrs or >60 yrs, height <150 cm, previous lower limb surgery, contraindication to spinal anesthesia, significant renal or hepatic function impairment, diabetes, peripheral and/or central neuropathies, hypersensitivity to ropivacaine, fentanyl, morphine or acetaminophen.

Ropivacaine Administration and Blood Sampling

In the operating room, standard monitoring equipment was attached and IV catheters (for PK sampling, drug and fluid administration) were placed at the upper limbs. Prior to spinal anesthesia, a light sedation using IV fentanyl (0.75 ug/kg) was given. The patient was then placed in the sitting position and following skin infiltration with 1% lidocaine hydrochloride, a 27 gauge Whitacre spinal needle was introduced into the subarachnoid space via the L2-L3 interspace. At this point, after negative aspiration, a 3.5 mL bolus dose of ropivacaine hydrochloride 0.5% (17.5 mg) was injected. The patient was placed supine till the end of surgery. Rationale for dose selection was based on previous studies where intrathecal ropivacaine was used for surgical anesthesia in patients undergoing lower limb surgery.⁷⁻⁹ In addition to surgical anesthesia, subject received IV morphine (1 mg-bolus, as needed) for post-operative pain management. Venous blood sampling was performed before drug administration (0 h), at 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90 min and at 2, 3, 4, 6, 8, 12, 16 and 24 h post-dose. Plasma was separated and stored at -70 °C pending HPLC analysis.¹⁰

Pharmacodynamic Evaluations

Quantitative sensory testing (biomarker). Transcutaneous electrical stimulation was applied to the skin overlying the middle anteromedial aspect of the operated

thigh (L2) by a pair of 1-cm diameter gold-plated surface electrodes linked to a neurostimulator (Neurotron, Inc., Baltimore, MD, USA).¹¹ The device uses a constant electrical sine wave stimulus at different frequencies (5, 250 and 2000 Hz) that have been reported to primarily stimulate small (C), medium (A δ) and large (A β) fibers, respectively.¹¹ Mostly because of its possible association with the pain conducting C-fibers,¹² the 5-Hz frequency (pulse duration: 100 ms) was used throughout the study. CPT evaluation was performed as previously described.¹³ Briefly, the intensity of the non-painful stimulation (5-Hz sine wave pulses, cut-off 9.99 mA) was increased in steps of 20 μ A at 3 sec intervals from 0 mA until the patients perceived any change in sensation (CPT). The current was turned off and the procedure repeated using steps of 10 μ A. CPT measurements were performed at times $t = 0$ (baseline), at approximately 5, 10, 15, 20 and 25 min and throughout the perioperative period (up to 6 h after the administration of the local anesthetic). Baseline values were obtained in triplicate and the average value used for data analysis.

Ice cold-testing and Bromage scale. To corroborate successful anesthesia, sensory and motor evaluations were performed before and after surgery. Sensory evaluation, using an ice cube, was carried out during the first 20 min after the administration of ropivacaine. Motor blockade was evaluated at 10, 15, 20 and 30 min post-dose using a modified Bromage scale.⁷ Loss of cold sensation was determined by the patient's verbal response to the stimulus applied at middle anteromedial aspect of the operated thigh (L2 dermatome). The response was noted as follows: 0 = normal sensation, 1 = no perception. Motor block in the contralateral thigh was evaluated using the following scale: 1 = complete motor blockade; 2 = almost complete motor blockade (the patient is able only to move feet); 3 = partial motor blockade (the patient is able to move the knees); 4 = detectable weakness of hip flexion: (the patient is able to raise the leg but is unable to keep it raised); 5 = no detectable weakness of hip flexion (the patient is able to keep the leg raised during 10 s at least); 6 = no weakness at all (the patient is able to perform partial knee bend while supine). Patients were excluded from PK-PD data analysis if no block was present before

surgery, as determined by ice-cold testing and motor blockade. Additional measurements were taken throughout the postoperative period until the return of sensory (0 = normal sensation) and motor (6 = no weakness at all) functions.

PK-PD analysis

Pharmacokinetic Analysis. As previously reported,¹⁴ a one-compartment model having two parallel first-order inputs (ka_1 and ka_2) was fitted to ropivacaine plasma concentration-time data. Assuming complete absorption ($F = 1$) for a 15.5 mg dose (equivalent base), a parameterization with F_1 and F_2 where $F_2 = 1 - F_1$ was used. The inter-individual variability (IIV) was characterized by assuming that the individual parameters were log normally distributed around the population typical value (Eq. (1)):

$$P_{ij} = \theta_j \cdot \exp(\eta_{ij}) \quad (1)$$

where P_{ij} is the j -th parameter value for individual i , θ_j is the j -th typical parameter value of the population, and $\eta_{ij} \sim N(0, \omega_j^2)$. The structure of the variance-covariance matrix for IIV was refined after finalizing the covariate model. The improvement of model fit by inclusion of a lag time or covariates (age, body weight and height) was tested using the likelihood ratio criterion (see statistical analysis).

Pharmacodynamic Analysis.

CPT measurements were modeled by assuming that spinal anesthesia would cause an increase in the current intensity needed for the perception of the stimulus. To collapse the hysteresis observed between the pharmacodynamic response and the amount in the depot compartment (derived from concentration-time data), a virtual effect-site compartment was added with an equilibrium half-life, $T_{1/2}ke0$ (fig. 1). A sigmoid E_{max} model was used to describe the time-course of the effect:

$$E(t) = E_0 + \frac{E_{max} \cdot AE(t)^\gamma}{AE_{50}^\gamma + AE(t)^\gamma} \quad (2)$$

where E_0 is the current intensity before the administration of the local anesthetic, E_{max} is the current intensity at maximum ropivacaine-induced effect,

AE_{50} is the effect-site amount corresponding to 50% of E_{max} , $AE(t)$ is effect-site amount at time t and γ is a shape parameter.

The time-course of return of sensory (0 = normal sensation) and motor (6 = no weakness at all) functions were analysed using a time-to-event model¹⁵ with a time-varying hazard described as follows:

$$h(t) = \lambda\alpha(\lambda t)^{\alpha-1} \quad (3)$$

$$S(t) = e^{-\int_{t_j}^{t_{j+1}} h(t)dt} \quad (4)$$

where the hazard $h(t)$ is a function of a rate constant λ and a shape parameter α (hazard increases with time when $\alpha > 1$). The survival curve $S(t)$, which describes the probability of not experiencing an event (loss or recovery of cold sensation or locomotion) within a certain time interval (t_j to t_{j+1}), is a function of the cumulative hazard. Hence, the likelihood for having an event at time t is the probability density function, i.e. $S(t) \cdot h(t)$.

Statistical analysis

Data analysis was performed with NONMEM®, version VII, Level 1.1, ADVAN6.¹⁶ The first-order conditional estimation method with interaction (FOCE-I) was used throughout the analysis except for dichotomous data (cold sensation and locomotion) where the Laplacian option was used. To handle censored observations (above the cut-off of the device), a full likelihood approach¹⁷, in which data above the upper limit of quantification are treated as censored, was also tried. With this method, the likelihood for a censored observation is obtained by integrating the density function from the cut-off value (9.99 mA) to infinity.

The PK-PD analysis was performed using a sequential approach. First, empirical Bayesian estimates were obtained from the pharmacokinetic model and then used to predict ropivacaine-induced changes in log-transformed CPT measurements. Model parameters were assumed to be log-normally distributed across the population (Eq.

(1)). Residual error was assumed to be proportional both for concentrations and effects parameters.

The influence of patient demographic characteristics (age, body weight and height) was tested on key pharmacodynamic parameters. Using the objective function value (OFV), the likelihood ratio test was applied between nested models to test for any significant [$\Delta\text{OFV} > 6.64$; $P < 0.01$; degree of freedom (df) = 1] improvement in model fit.

Visual predictive checks were used to evaluate the performance of the final models by comparing the 5th and 95th percentiles of the simulated ($N = 1,000$) anesthetic effects with the observed data. To allow inter-individual comparison, CPT raw data were normalized by converting them to percent of maximum possible effect (% MPE):

$$\% \text{ MPE} = \left(\frac{CPT_{pred} - CPT_{baseline}}{CPT_{max} - CPT_{baseline}} \right) * 100 \quad (5)$$

where $CPT_{baseline}$, CPT_{pred} and CPT_{max} are estimated CPTs at baseline, time t and maximum ropivacaine-induced effect, respectively.

Stability of the final PK-PD model parameters was evaluated by running parametric bootstrap using 1,000 random samples. The estimated parameters were examined for bias and precision via descriptive statistics.

Results

Table 1 presents demographic characteristics of the subjects. One patient was excluded from data analysis because of failed spinal anesthesia, as assessed by sensory (loss of cold sensation) and motor blockade. Censored CPTs (device cut-off) were observed in three patients out of fourteen. No adverse effect occurred throughout the study.

Pharmacokinetic data analysis

Mean observed plasma concentrations of ropivacaine are illustrated in figure 2. A biphasic release of the agent from the intrathecal space was observed, with an

estimated lag-time of 18 ± 1.2 min between the two phases. The latter proved to be essential for model stability. Population typical estimate for the first (ka_1 of 0.841 ± 0.191 h⁻¹) and second (ka_2 of $0.628 \pm .104$ h⁻¹) absorption rate constants were not statistically different and were therefore fixed to the same typical population value. None of the pharmacokinetic model parameters showed age, body weight or height dependency. Parameter estimates for the final population pharmacokinetic model are presented in table 2. Corresponding best, median and worst data fits, as determined by the coefficient of determination (R^2), are given in figure 3.

Pharmacodynamic Data Analysis

The effect of ropivacaine on CPT measurements on the thigh, after spinal anesthesia at L2, is presented in figure 4. There was a wide range in the observed maximal intensity for CPT measurements (3.1 ± 3.4 mA, $n = 14$), with an approximate 25 fold increase from baseline (0.14 ± 0.11 mA, $n = 14$). Ropivacaine maximal response was observed within 12.6 ± 4.9 min of dosing, with a subsequent return to baseline 210 ± 55 min after the administration of the local anesthetic. The results of the population pharmacodynamic analysis are summarized in table 3.

The evolution of the motor block with time, assessed by the modified Bromage scale, is shown in figure 5. Ropivacaine effect on motor blockade (fig. 6, *lower* panel) was of shorter duration (195 ± 46 min) than its effect on sensory blockade (221 ± 49 min) (fig. 6, *upper* panel). This is also reflected by the lower estimated rate of recovery of sensory function (0.261 ± 0.02 h⁻¹) compared to the return of locomotion ($.287 \pm 0.03$ h⁻¹). A time-increasing hazard ($\alpha = 4.3$) was fitted to the binary response to ice cold testing and Bromage scale.

The effect of ropivacaine on CPT measurements was characterized by a temporal delay relative to the amount in the depot compartment (fig. 7, *left* panel). As shown in figure 7 (*right* panel), the counterclockwise hysteresis was minimized successfully by the link model. The likelihood based method tested for handling censored data did not further improve the model fit. Therefore, estimated CPTs above the device cut-

off were discarded from data analysis. None of the PK-PD model parameters showed age, body weight or sex dependency.

Best, median, and worst individual fits of the final pharmacodynamic model are given in figure 8. The model adequately described the overall time-course of ropivacaine effect measurements (see also visual predictive check in fig. 9 and fig.10). Simulation of the %MPE normalized PK-PD relationship of ropivacaine after a spinal anesthesia in orthopedic patients is presented in figure 11.

Discussion

A population PK-PD model was developed that quantitatively described sensory blockade during spinal anesthesia. To the best of our knowledge, this is the first PK-PD model developed for intrathecally administered ropivacaine.

The pharmacokinetics of ropivacaine after intrathecal administration was previously characterized in an animal model.¹⁴ Using a microdialysis technique and deconvolution analysis, the authors identified a biphasic release of the local anesthetic from its site of injection, with about 65 % of ropivacaine absorbed during an initial phase of absorption (first 30 min) followed by a second phase ($T_{1/2}$ of 90 ± 36.5 min). These findings are in general agreement with results obtained from the current analysis, where typical population estimate for F_1 and ka were 72 % and 55 ± 15 min, respectively.

In some patients, absorption kinetics of ropivacaine from the intrathecal space could not be described adequately by a two first order absorption phase. In contrast, adequate characterization of the absorption of bupivacaine always requires a bi-exponential function reflecting two parallel absorptions processes.¹⁸ This difference is probably related to differences in the physicochemical properties of the agents. It is likely that the binding to tissues at and near the site of injection is more extensive for bupivacaine than for ropivacaine, because bupivacaine is more lipids soluble and has a higher affinity for protein structure. This higher tissue/blood partition

coefficient of bupivacaine may then explain its relatively longer absorption half-life ($T_{1/2}$ of 408 ± 275 min).¹⁸

Comparison of the parameters that describe the absorption of ropivacaine after intrathecal and epidural administration indicates a faster initial absorption phase after epidural administration ($t_{1/2}$: ~ 11 min).¹⁹ This can be attributed to differences in the vascularisation of the respective spaces. The epidural space is rich in epidural veins²⁰ draining the neural tissue of the spinal cord and the cerebrospinal fluid, which offers the possibility of rapid uptake of local anesthetics into the systemic circulation. In comparison, the perfusion of the intrathecal space is less extensive²⁰ and the initial systemic uptake of the agent is therefore likely to be slower.

It was previously shown that CPT measurements can be applied to characterize, in a quantitative manner, the recovery of sensory nerve block after lidocaine spinal anesthesia in volunteers ($n = 6$).¹² Likewise, the time-course of ropivacaine sensory blockade was successfully characterized in our study using this biomarker. The relatively slower onset of action of spinal ropivacaine compared to lidocaine allowed measurement of CPTs during onset of spinal anesthesia, which reached a stable maximal level (~ 3.1 mA) after approximately 12 min in most of our patients (12 out of 14). In three patients, the device cut-off (10 mA) precluded any further characterization of the maximal sensory blockade. This, in part, may have contributed to the relatively large variability observed for CPT measurements (Fig. 4.) The time required for CPTs to return to baseline values (0.14 ± 0.11 mA) was somewhat longer (~ 210 min) than that reported for lidocaine (~ 150 min)¹² mostly because of the relatively higher liposolubility of ropivacaine.

In agreement with other investigations where the degree of motor (Bromage scale) and sensory (ice-cold testing) differentiation was evaluated after spinal ropivacaine,^{7,21,22} we found a slightly shorter duration of motor blockade (195 ± 46 min) relative to sensory blockade (221 ± 49 min) after a single intrathecal (L2) dose of 17.5 mg. Gauthier and colleagues⁷ reported in 30 ambulatory patients (age of 42 ± 17 yr) having received intrathecally 14 mg of ropivacaine hydrochloride, a duration

of motor and sensory (evaluated at S2) blockades of 189 ± 44 and 192 ± 48 min respectively, which is quite similar to the results obtained herein.

PK-PD modeling of the quantitative biomarker was carried out using a sigmoid E_{max} model, thereby providing a meaningful pharmacodynamic estimate of AE_{50} (~ 7.3 mg). A previous dose-response study⁸ in patients undergoing lower limb surgery ($n = 60$) has estimated a mean ED_{50} of 7.6 mg (95% CI: 6.2 – 8.7 mg) for spinal ropivacaine, which is in the same order of magnitude as our typical population estimate for AE_{50} . For ke_0 , we found a faster mean half-life than that reported for epidural anesthesia (8 vs 25 min, respectively).²³ Indeed, to reach its site of action after intrathecal administration, the local anesthetic has only to diffuse within the cerebrospinal before penetrating the nerves. This process takes longer time in the epidural space given the longitudinal spread and local tissue distribution of the drug.²⁰ In addition, uptake of the drug by the epidural fat lowers the perineural concentrations, thereby decreasing the concentration gradient and, in turn, the rate of transfer by passive diffusion through the nerves. The estimated lag time of 18 min between the two phases of absorption is compatible with the estimated equilibration half-life between the depot and site-effect compartment (8.5 min).

In our study, none of our PK or PD model parameters showed any age, body weight or height dependency. A significant correlation between the time-course of sensory blockade (e.g. onset of block assessed by pinprick) and some demographic factors (age, body weight and height) was previously reported after neuraxial administration of ropivacaine.²⁴ Although direct comparisons are difficult, it cannot be excluded that, in a larger and more heterogeneous sample population of patients, the effect of these demographic factors could be identified. Another potential limitation of the current analysis is the underlying assumption of a complete bioavailability of the injected solution. Also, as the concentration at the injection site was not measured, the time-course of the amount of local anesthetic in the depot relies entirely on our model. All these factors have to be taken into account during the interpretation of the estimated AE_{50} .

Conclusions

A predictive population PK-PD model of spinal ropivacaine in patients undergoing lower limb surgery was developed. This may be used to make predictions about the time course of sensory blockade and to adjust dosage according to clinical needs.

Acknowledgements

This research program was supported by the Canadian Institutes for Health Research (MOP-84519) and by the Fonds de la Recherche en Santé du Québec (F.Gaudreault's studentship). The authors are grateful to Johanne Couture, from Université de Montréal and Nadia Godin, from Hôpital Maisonneuve-Rosemont, for their technical support. We also want to thank Dr. Louis-Philippe Fortier, Dr. Issam Tanoubi and Dr. Bruno Petit at Hôpital Maisonneuve-Rosemont for their precious collaboration.

References

1. Wille M: Intrathecal use of ropivacaine: a review. *Acta Anaesthesiol Belg* 2004; 55: 251-9
2. Simpson D, Curran MP, Oldfield V, Keating GM: Ropivacaine: a review of its use in regional anaesthesia and acute pain management. *Drugs* 2005; 65: 2675-717
3. Zink W, Graf BM: Benefit-risk assessment of ropivacaine in the management of postoperative pain. *Drug Saf* 2004; 27: 1093-114
4. Korhonen AM: Use of spinal anaesthesia in day surgery. *Curr Opin Anaesthesiol* 2006; 19: 612-6
5. Gaudreault F, Drolet P, Fallaha M, Varin F: Modeling the Anesthetic Effect of Ropivacaine after a Femoral Nerve Block in Orthopedic Patients: A Population Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Analysis. *Anesthesiology* 2013; under revision
6. Gaudreault F, Drolet P, Fallaha M, Varin F: A population pharmacokinetic model for the complex systemic absorption of ropivacaine after femoral nerve block in patients undergoing knee surgery. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2012; 39: 635-42
7. Gautier PE, De Kock M, Van Steenberge A, Poth N, Lahaye-Goffart B, Fanard L, Hody JL: Intrathecal ropivacaine for ambulatory surgery. *Anesthesiology* 1999; 91: 1239-45
8. Lee YY, Ngan Kee WD, Chang HK, So CL, Gin T: Spinal ropivacaine for lower limb surgery: a dose response study. *Anesth Analg* 2007; 105: 520-3
9. Lee YY, Ngan Kee WD, Fong SY, Liu JT, Gin T: The median effective dose of bupivacaine, levobupivacaine, and ropivacaine after intrathecal injection in lower limb surgery. *Anesth Analg* 2009; 109: 1331-4

10. Gaudreault F, Drolet P, Varin F: High-performance liquid chromatography using UV detection for the simultaneous quantification of ropivacaine and bupivacaine in human plasma. *Ther Drug Monit* 2009; 31: 753-7
11. Katims JJ: Electrodiagnostic functional sensory evaluation of the patient with pain: a review of the neuroselective current perception threshold and pain tolerance threshold. *Pain Digest* 1998; 8: 219-230
12. Liu S, Kopacz DJ, Carpenter RL: Quantitative assessment of differential sensory nerve block after lidocaine spinal anesthesia. *Anesthesiology* 1995; 82: 60-3
13. Gaudreault F, Drolet P, Fallaha M, Varin F: Reliability of the Current Perception Threshold in Volunteers and its Applicability in a Clinical Setting. *Anesth Analg* 2013; submitted for publication
14. Rose FX, Estebe JP, Ratajczak M, Wodey E, Chevanne F, Dollo G, Bec D, Malinovsky JM, Ecoffey C, Le Corre P: Epidural, intrathecal pharmacokinetics, and intrathecal bioavailability of ropivacaine. *Anesth Analg* 2007; 105: 859-67
15. Karlsson KE, Plan EL, Karlsson MO: Performance of three estimation methods in repeated time-to-event modeling. *AAPS J* 2011; 13: 83-91
16. Beal S, Sheiner LB, Boeckmann A, Bauer RJ: (1989-2009) NONMEM User's Guides, Icon Development Solutions, MD, USA, 2009.
17. Ahn JE, Karlsson MO, Dunne A, Ludden TM: Likelihood based approaches to handling data below the quantification limit using NONMEM VI. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2008; 35: 401-21
18. Burm AG, Van Kleef JW, Vermeulen NP, Olthof G, Breimer DD, Spierdijk J: Pharmacokinetics of lidocaine and bupivacaine following subarachnoid administration in surgical patients: simultaneous investigation of absorption and disposition kinetics using stable isotopes. *Anesthesiology* 1988; 69: 584-92
19. Simon MJ, Veering BT, Vletter AA, Stienstra R, van Kleef JW, Burm AG: The effect of age on the systemic absorption and systemic disposition of ropivacaine after epidural administration. *Anesth Analg* 2006; 102: 276-82

20. Burm AG: Clinical pharmacokinetics of epidural and spinal anaesthesia. *Clin Pharmacokinet* 1989; 16: 283-311
21. Kallio H, Snall EV, Kero MP, Rosenberg PH: A comparison of intrathecal plain solutions containing ropivacaine 20 or 15 mg versus bupivacaine 10 mg. *Anesth Analg* 2004; 99: 713-7, table of contents
22. McNamee DA, McClelland AM, Scott S, Milligan KR, Westman L, Gustafsson U: Spinal anaesthesia: comparison of plain ropivacaine 5 mg ml(-1) with bupivacaine 5 mg ml(-1) for major orthopaedic surgery. *Br J Anaesth* 2002; 89: 702-6
23. Olofsen E, Burm AG, Simon MJ, Veering BT, van Kleef JW, Dahan A: Population pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of epidural anesthesia. *Anesthesiology* 2008; 109: 664-74
24. Schnider TW, Minto CF, Bruckert H, Mandema JW: Population pharmacodynamic modeling and covariate detection for central neural blockade. *Anesthesiology* 1996; 85: 502-12

Tables

Table 1. Characteristics of the study population

n	14
Age, yr	31.3 ± 7.6
Weight, kg	86.6 ± 17.5
Height, m	1.63 ± 0.48
BMI, kg/m ²	28.2 ± 4.36
Gender, F/M	2/12

Values are mean ± SD

Table 2. Population Pharmacokinetic Model Parameters

Parameters ^a	Population estimates (SE %) ^b	95% CI ^c of population estimate	IIV ^d (CV%) ^e (SE %) ^b	95% CI ^c of IIV ^d (CV%) ^e
<i>Cl/F</i> (L/h)	14.7 (10.7)	12.5 – 17.2	38.9 (11.7)	28.9 – 44.7
<i>V/F</i> (L)	70.2 (6.15)	62.1 – 77.3	10.8 (33.1)	5.8 – 17.8
<i>Lag</i> (min)	18.3 (6.96)	11.7 – 25.5	-	-
<i>F</i> ₁	0.739 (8.44)	0.482 – 0.867	-	-
<i>k</i> _{a1} (h ⁻¹)	0.753 (17.6)	0.560 – 1.02	88.7 (27.6)	41.5 – 132
<i>k</i> _{a2} (h ⁻¹)			101 (20.2)	60.8 – 119
Proportional residual variability (CV%) ^e	15.1 (9.53)	12.1 – 17.5	-	-

Abbreviations: *Cl/F* = Apparent clearance; *V/F* = Apparent volume of distribution; *Lag* = lag-time or delay between the absorption phases; *F*₁ = fraction of the dose absorbed; *k*_{a1-2} = first-order absorption rate constant for the first and second absorption processes.

^a Dose in equivalent base (15.5 mg)

^b Standard error estimated by the covariance step in NONMEM expressed as percent.

^c 95% confidence interval. The lower and upper limits for 95% were calculated using the bootstrap.

^d Inter-individual variability variability, calculated as (variance)^{1/2}*100%.

^e Coefficient of variation expressed as percent.

Table 3. Population Pharmacodynamic Model Parameters

Parameters ^a	Population estimates (SE %) ^b	95% CI ^c of population estimate	IIV ^d (CV%) ^e (SE %) ^b	95% CI ^c of IIV ^d (CV%) ^e
Biomarker (CPT measurements)				
E_0 (mA)	0.11 (13.1)	0.08 – 0.15	72.4 (15.6)	49.0 – 86.3
E_{max} (mA)	2.12 (45.9)	1.05 – 3.60	93.3 (19.1)	45.9 – 116
AE_{50} (mg)	6.45 (32.0)	3.86 – 8.91	42.7 (17.6)	29.7 – 56.1
γ	3.44 (33.4)	2.67 – 4.61	59.9 (39.0)	21.6 – 90.3
$ke0$ (h ⁻¹)	4.87 (18.4)	3.56 – 7.22	52.9 (25.2)	26.2 – 69.1
σ^2 (CV%) ^e	23.3 (15.5)	13.6 – 27.9	-	-
Clinical endpoints (recovery of sensory and motor functions)				
$\lambda_{sensory}$ (h ⁻¹)	0.261 (7.63)	-	-	-
$\alpha_{sensory}$	4.27 (23.7)			
λ_{motor} (h ⁻¹)	0.287 (10.3)			
α_{motor}	4.28 (35.6)	-	-	-

Abbreviations: CPT = current perception threshold; E_0 = Current intensity before the administration of ropivacaine; E_{max} = Current intensity at maximum ropivacaine-induced effect; AE_{50} = Effect-site amount corresponding to 50% of E_{max} ; γ = Shape parameter; $ke0$ = First-order equilibrium rate constant; σ^2 = Residual variability (constant in the log-domain); λ = first-order rate constant; α = shape parameter for the hazard.

^a Dose in equivalent base (15.5 mg)

^b Standard error estimated by the covariance step in NONMEM expressed as percent

^c95% confidence interval (using bootstrap)

^dInter-individual variability, calculated as (variance)^{1/2}*100%

^eCoefficient of variation expressed as percent (in the log-domain)

Figures

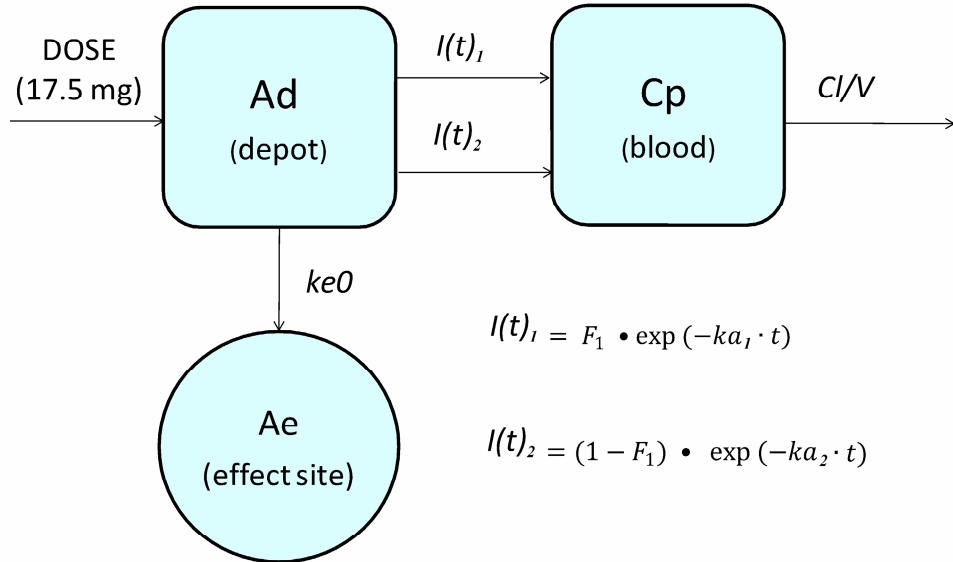


Fig. 1. Schematic representation of the PK-PD model used to describe the effect of ropivacaine on Current Perception Threshold (CPT) during spinal anesthesia in patients undergoing lower limb surgery. F_1 = fraction estimated for the fast input; t = time after dosing; ka_1 and ka_2 = first-order absorption rate constants for the *fast* ($I(t)_1$) and *slow* ($I(t)_2$) inputs, respectively; CI = total body clearance; V = apparent volume of distribution; ke_0 = first-order depot-effect site equilibrium rate constant; Ad = amount in the depot compartment; Cp = ropivacaine plasma concentrations; Ae = amount in the effect site compartment; E_0 is the current intensity of the stimulus before the administration of the local anesthetic, E_{max} is the current intensity at maximum ropivacaine-induced effect, AE_{50} is the effect-site amount corresponding to 50% of E_{max} , $AE(t)$ is effect-site amount at time t and γ is a shape parameter.

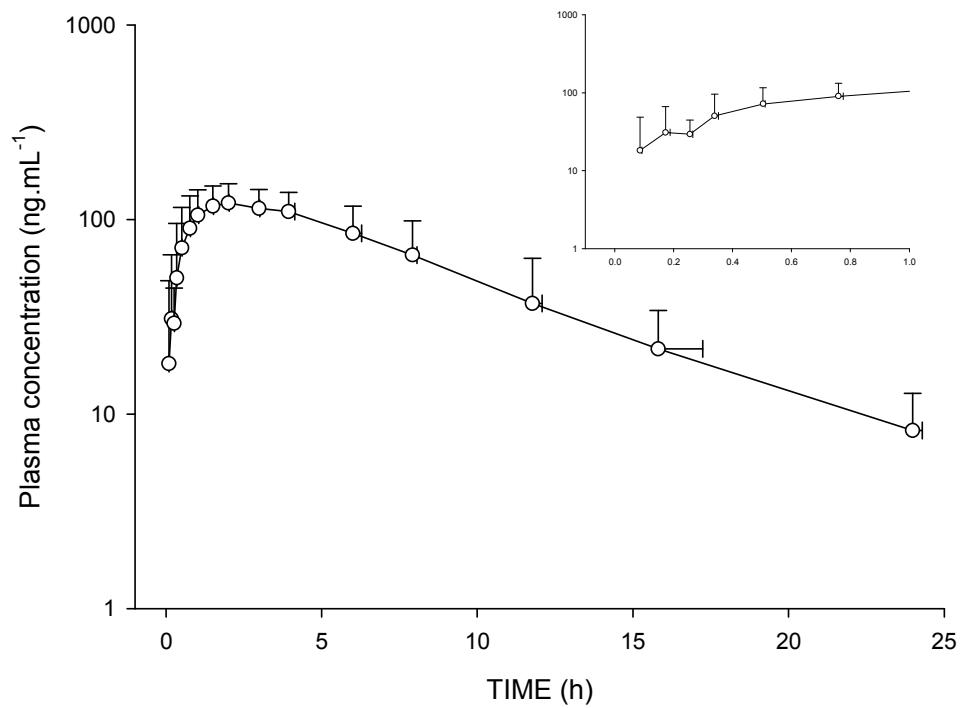


Fig. 2. Observed ropivacaine plasma concentration vs. time profiles obtained after a single intrathecal dose (17.5 mg) in patients undergoing lower limb surgery (n = 14). Values are mean \pm SD.

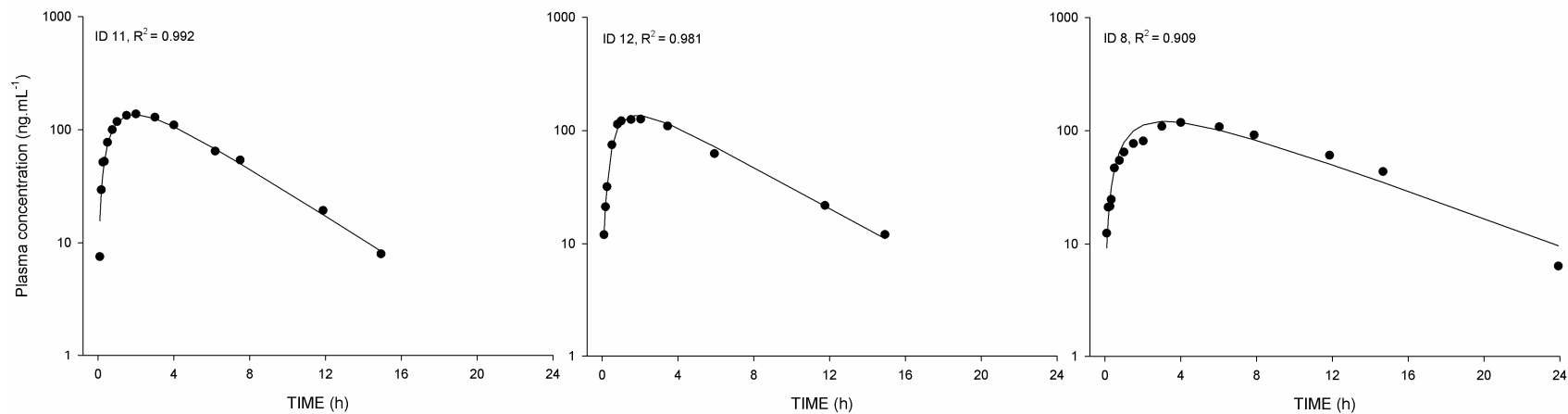


Fig. 3. Best, median and worst model fits (*left, middle and right* panels, respectively) according to the coefficient of determination (R^2) of ropivacaine pharmacokinetic data using the model depicted in Fig. 1. The *dots* represent the measured plasma concentrations (in ng.mL⁻¹). The *lines* are the data fits.

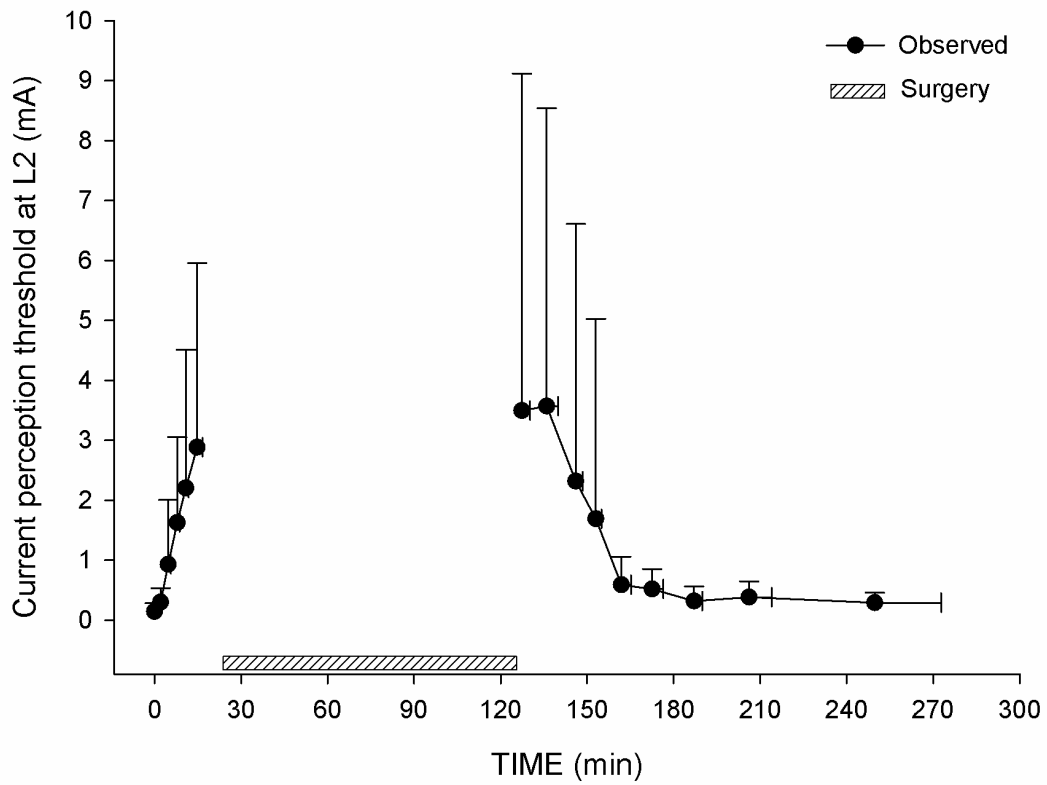


Fig. 4. Current perception thresholds (CPT, in *mA*) over the middle anteromedial aspect of the operated thigh after a single injection of intrathecal (at L2) ropivacaine (17.5 mg) in patients undergoing lower limb surgery ($n=14$). Values are mean \pm SD.

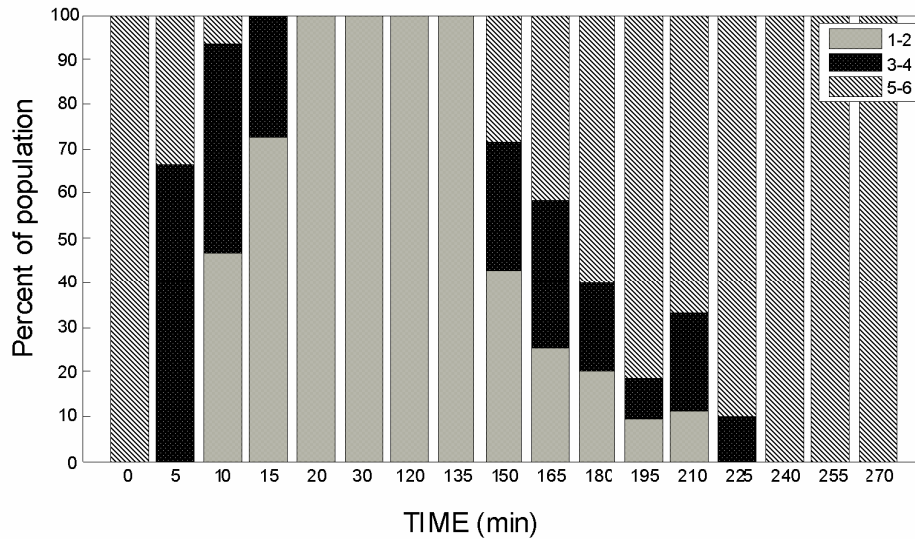


Fig. 5. Intensity of motor blockade expressed as percentage of the population presenting with a modified Bromage scale score of 1 = complete motor blockade; 2 = almost complete motor blockade (the patient is able only to move feet); 3 = partial motor blockade (the patient is able to move the knees); 4 = detectable weakness of hip flexion: (the patient is able to raise the leg but is unable to keep it raised); 5 = no detectable weakness of hip flexion (the patient is able to keep the leg raised during 10 s at least); 6 = no weakness at all (the patient is able to perform partial knee bend while supine) at different times in patients having received 17.5 mg of spinal ropivacaine hydrochloride.

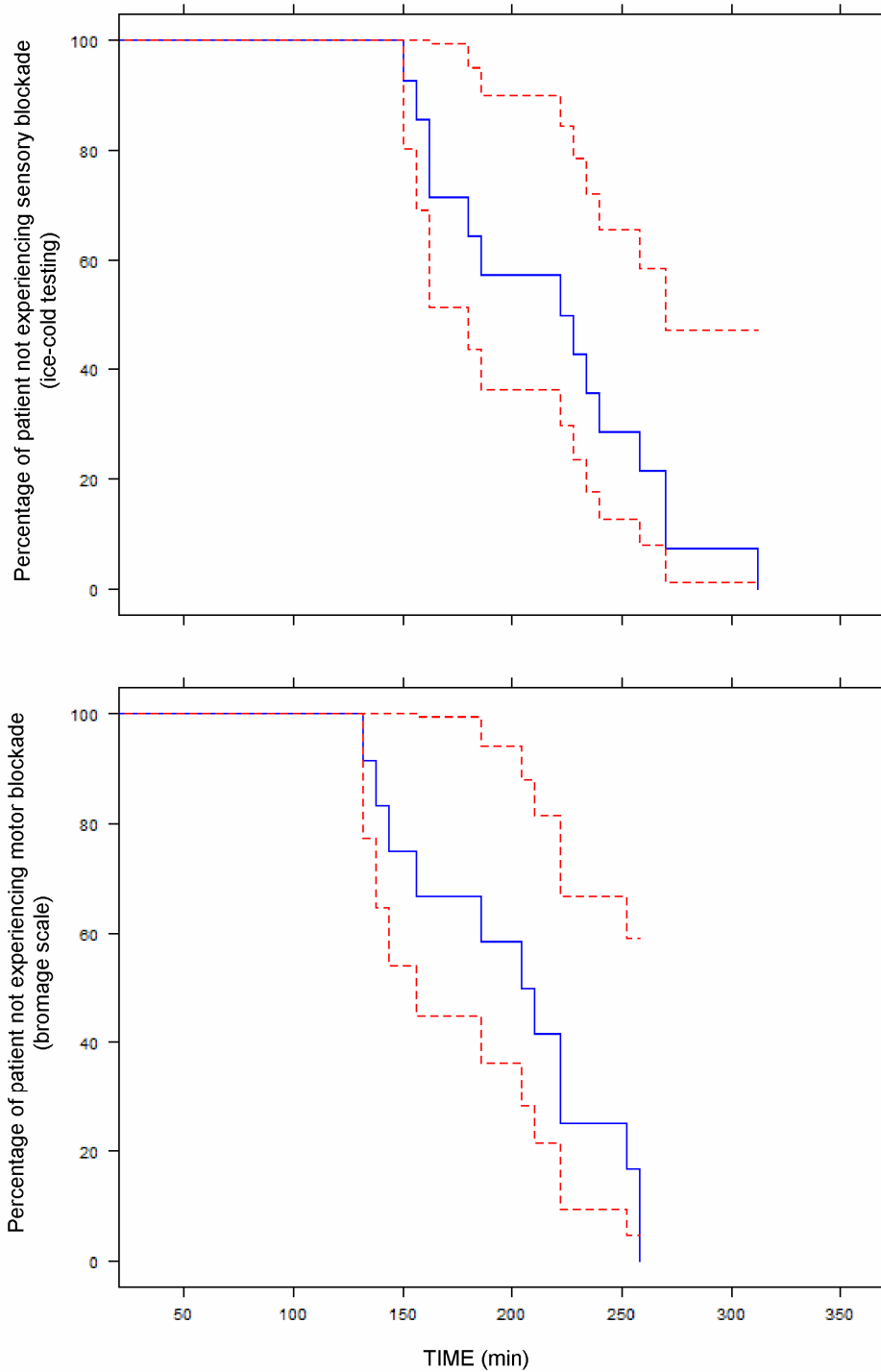


Fig. 6. Kaplan-Meier plots describing the probability of not having a recovery of sensory (*upper panel*) or motor (*bottom panel*) blockades \pm 95% confidence intervals (*broken lines*) after spinal ropivacaine in 14 patients.

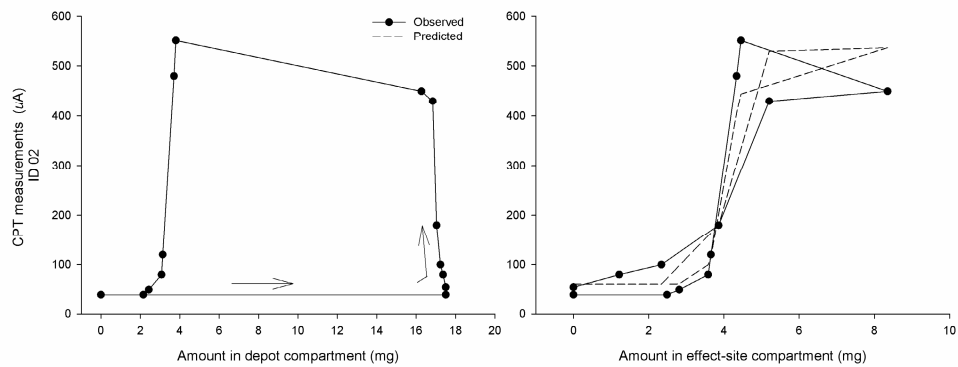


Fig. 7. Temporal delay of the current perception threshold (CPT) in a representative patient having received a single intrathecal dose (17.5 mg) of ropivacaine hydrochloride. Counterclockwise hysteresis loop of the estimated amount in the depot compartment vs. CPTs (—●—; *left panel*). The arrows indicate the time course. Corresponding CPT *versus* estimated effect-site ropivacaine amount and model fit (*broken line; right panel*).

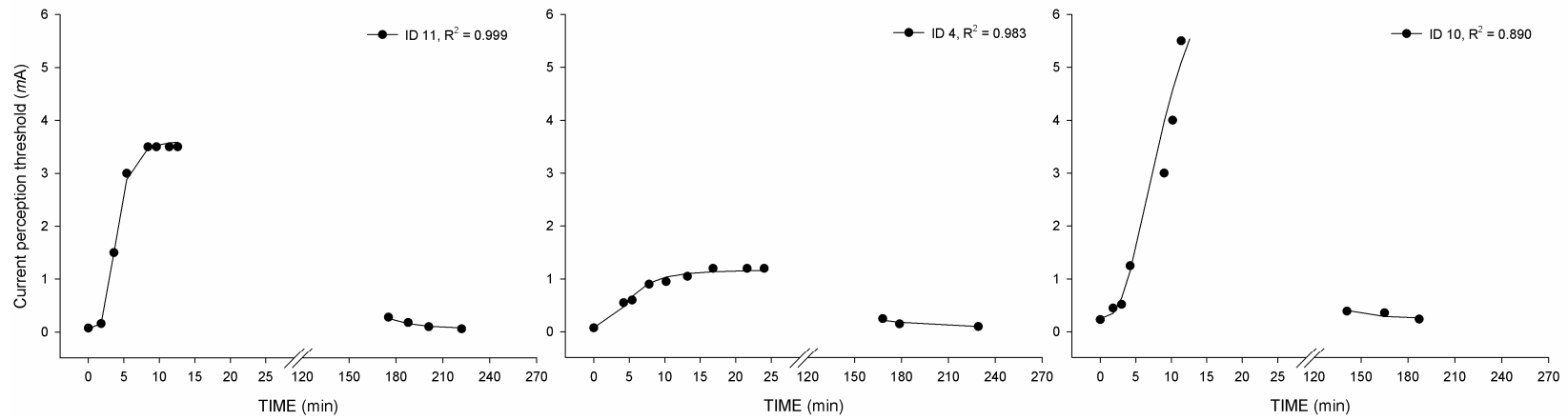


Fig. 8. Best, median and worst model fits (*left, middle and right* panels, respectively) according to the coefficient of determination (R^2) for the time-course of current perception threshold (CPT). The *dots* represent CPTs (in μA). The *lines* are the data fits.

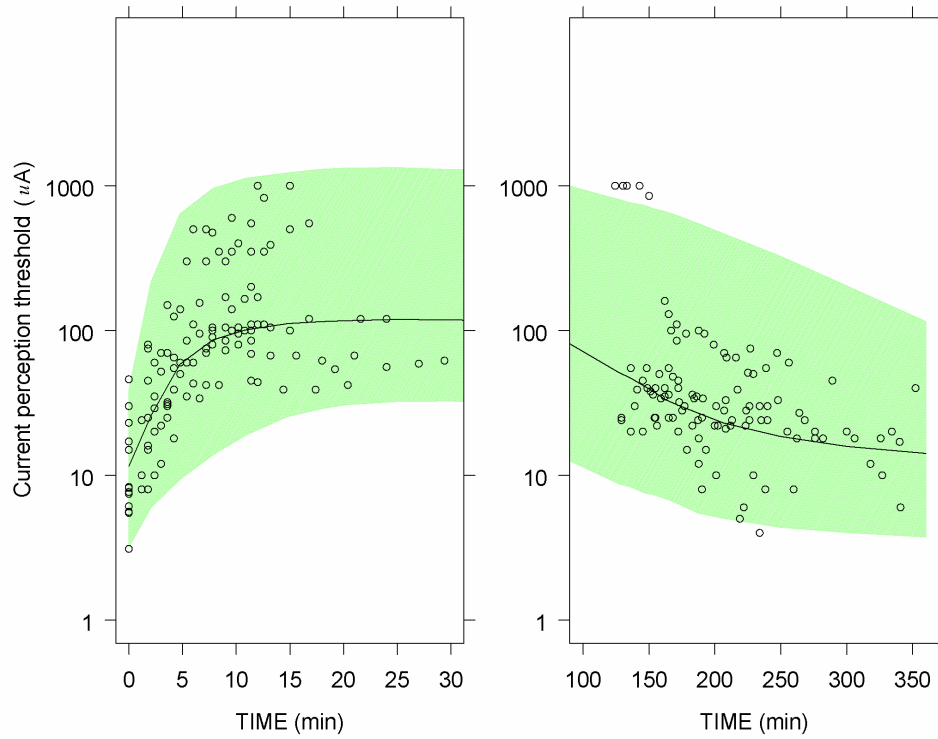


Fig. 9. Visual predictive checks of the time-course of ropivacaine effect on CPTs during the onset (*left* panel) and offset (*right* panel). The circles represent the observations, the shaded areas represent the 95 % confidence intervals of the model simulations (N = 1,000) and the solid black line depicts the median profile.

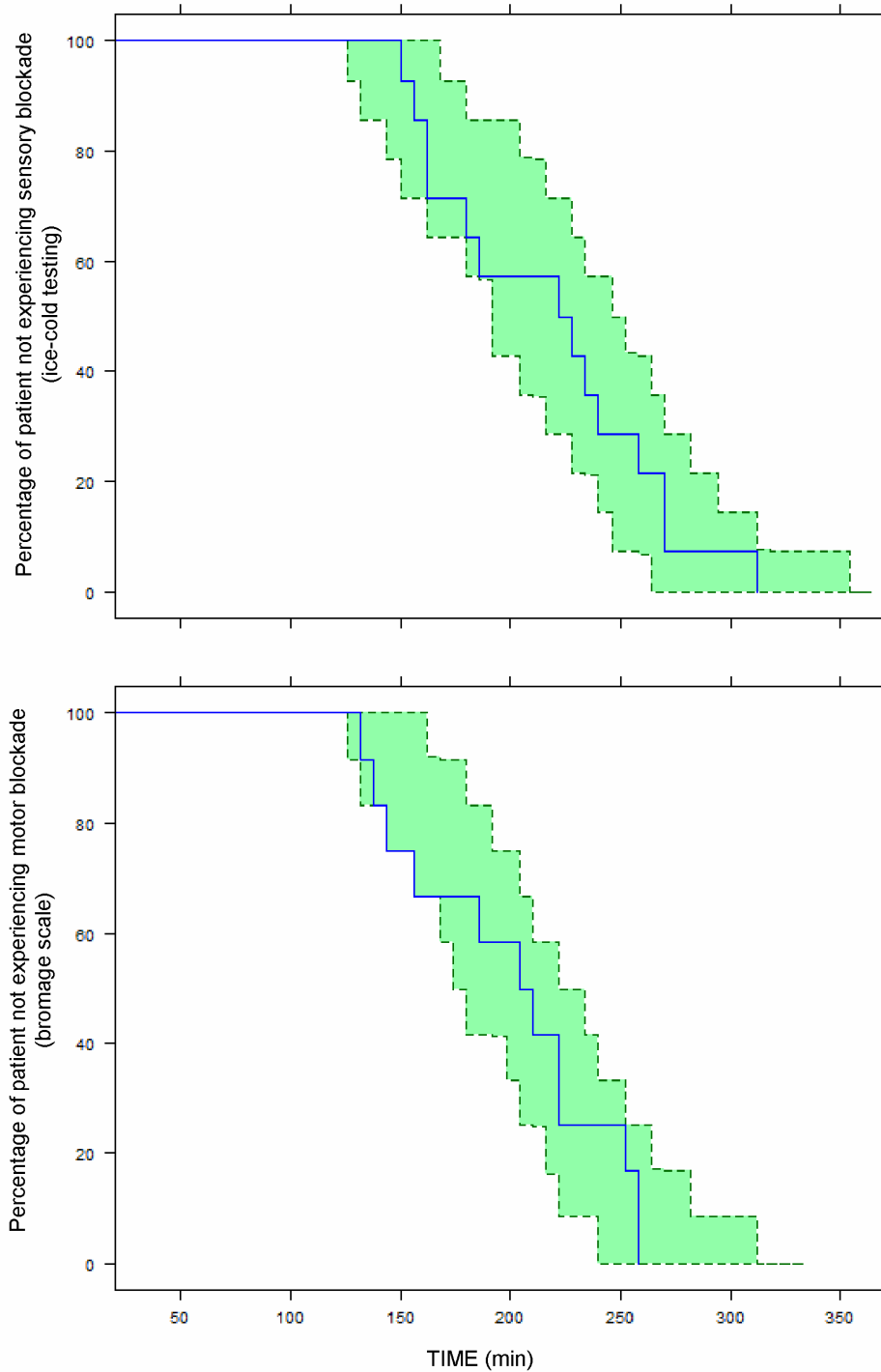


Fig. 10. Visual predictive checks of the duration of ropivacaine effect on sensory (ice-cold testing, *upper* panel) and motor (Bromage scale, *bottom* panel) blockade. The blue lines represent the observations and the shaded areas represent the 95 % confidence intervals of the model simulations (N = 1,000).

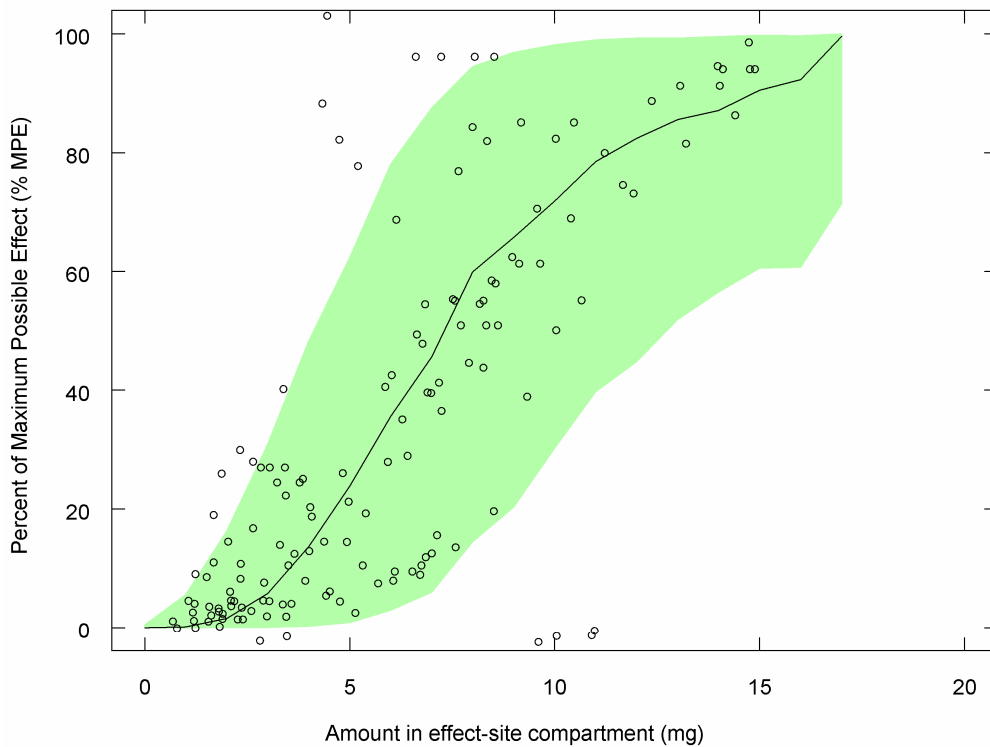


Fig. 11. Visual predictive check of the estimated maximum possible effect (% MPE) vs. estimated amount in the effect-site compartment. The circles represent the data, the shaded areas represent the 95 % confidence intervals of the model simulations (N = 1,000) and the solid black line depicts the median profile.

SECTION III: CONCLUSION

Discussion générale

Les travaux effectués dans le cadre de ce projet doctoral avaient pour objectif général la caractérisation de la relation PK-PD de la ropivacaïne administrée pour l'analgésie post opératoire (bloc du nerf fémoral) et l'anesthésie rachidienne chez des patients orthopédiques. La démarche adoptée reposait sur l'utilisation de l'approche populationnelle qui permet non seulement de décrire les différents niveaux de variabilité (intra- et inter-individuelle), mais également d'établir des modèles prédictifs qui, potentiellement, amélioreront l'utilisation clinique du médicament.

Le premier volet de ce programme de recherche clinique consistait à évaluer la fiabilité et la reproductibilité d'une méthode permettant de mesurer de manière quantitative l'évolution spatiotemporelle du comportement sensitif de l'anesthésie locorégionale. Le deuxième volet de cette recherche consistait à caractériser l'absorption systémique de la ropivacaïne durant le bloc du nerf fémoral chez des patients subissant une arthroplastie totale du genou. Enfin, les deux derniers volets de cet ouvrage consistaient à développer des modèles PK-PD populationnels aptes à prédire le début et la durée du bloc sensitif de la ropivacaïne après injection près du nerf fémoral ou dans l'espace intrathécal chez des patients orthopédiques.

i) Le choix de la méthode d'évaluation sensorielle

L'importance du choix de la méthode d'évaluation sensorielle ressort comme élément crucial lorsqu'on analyse de près les résultats cliniques publiés après l'administration péridurale de la lidocaïne.¹³¹ Dans cette étude, les auteurs ont comparé le potentiel analgésique de trois solutions de lidocaïne de pH différents en utilisant le glaçon, l'aiguille ainsi qu'un courant électrique comme stimulus sensitif. Une différence significative au niveau du potentiel analgésique correspondant aux différents pH a été rapportée avec la stimulation électrique, sans toutefois être en mesure de déceler de différence avec la glace ou l'aiguille. Cette discordance entre le marqueur clinique (glaçon ou aiguille) et le biomarqueur (stimulus électrique) découle des limites inhérentes aux méthodes d'évaluation de type qualitatif qui font que des réponses quantitativement différentes se retrouvent inévitablement classées dans la même

catégorie (froid/pas froid, mal/pas mal). Ainsi, des médicaments d'efficacité différente pourraient, à tort, être jugés équivalents par une réponse « qualitativement » similaire. Pour ces raisons, on préférera utiliser un seuil de perception de nature quantitative plutôt qu'une réponse qualitative, surtout lorsqu'il s'agit de décrire avec précision l'évolution spatiotemporelle du bloc sensitif.

Dans nos études, il y avait parfois discordance entre le CPT et la réponse au stimulus thermique (glaçon). Le faible nombre de participants à l'étude ne permet malheureusement pas de conclure quant à la validité intrinsèque du CPT. Néanmoins, il est possible de générer quelques hypothèses en ce qui a trait à la spécificité et la sélectivité de la mesure. Le tableau suivant montre les résultats obtenus lors de l'évaluation du bloc du nerf fémoral chez les patients orthopédiques.

CPT ^a	Glace	
	+	-
+	13	1
-	3	3

^a Augmentation d'au moins 80 % ($2 \times CV_{SEM}$ %) de la valeur de base.

Dans ces conditions, la mesure CPT aurait identifié 81 % des blocs nerveux jugés complets par le test du glaçon (sensibilité : $13 / (13 + 3)$) et 75 % de ceux apparemment incomplets (spécificité : $3 / (3 + 1)$). La présence de faux négatifs (CPT - et Glace +) est compatible avec un mauvais positionnement de l'électrode. Tel que mentionné précédemment, l'expression sensitive du bloc fémoral est très variable d'un sujet à l'autre¹³² et un emplacement standardisé pourrait avoir empêché d'obtenir l'augmentation attendue de la mesure CPT. De plus, des évidences suggèrent qu'il est généralement plus facile de bloquer un stimulus de faible intensité (froid) qu'une stimulation électrique.¹³³ À l'inverse, un faux positif (CPT + et Glace -) pourrait être attribué à un meilleur pouvoir discriminant de la mesure CPT. De fait, le Neurometer© utilise un stimulus transcutané sinusoïdal à fréquences variables (5, 250 et 2000 Hz) capable de stimuler directement les fibres nerveuses (C, A δ et A β , respectivement) sans passer par les nocicepteurs.

Bien que la mesure CPT soit plus sensible et précise que le test du glaçon, ces deux méthodes n'évaluent qu'une partie du phénomène complexe de la douleur. Il n'est donc pas étonnant de constater que, malgré un bloc d'apparence complet, le patient ressent parfois de la douleur post opératoire. Le meilleur critère pour juger du succès d'un bloc demeure, finalement, l'absence de douleur. Toutefois, ce critère de jugement de nature qualitative n'est mesurable qu'en post opératoire et n'aurait pas permis d'évaluer l'apparition du bloc sensitif, une phase essentielle dans l'établissement d'une relation PK-PD. Finalement, la mesure du seuil de perception de la douleur (PPT) aurait été contaminée par l'administration concomitante de morphine chez nos patients. Tel n'est cependant pas le cas pour le CPT à 5 Hz qui non seulement ne change pas en présence d'opiacés mais permet également d'évaluer de façon quantitative le bloc sensitif.

ii) Caractérisation de l'absorption systémique de la ropivacaïne durant le bloc du nerf fémoral

Lorsque l'absorption est plus lente que l'élimination, il y a une permutation dans la signification de la partie terminale du profil d'évolution des concentrations plasmatiques en fonction du temps. On parle alors de système en bascule ou selon la terminologie anglo-saxonne de flip-flop. Dans ce cas-ci, on a souvent recours à une méthode de déconvolution qui permet de déterminer la vitesse d'entrée « réelle » du médicament dans l'organisme ou « l'input function ».¹³⁴ En effet, le profil des concentrations plasmatiques d'un médicament résulte de trois processus concomitants, i.e. l'absorption, la distribution et l'élimination. Or, pour ne décrire que le processus d'absorption, il faut s'affranchir de ce qui est tributaire des deux autres (distribution et élimination) et on y parviendra seulement en déconvoluant la courbe des concentrations plasmatiques. Pour cela, on modélise d'abord la disposition du médicament (distribution et élimination) en se servant de données obtenues après une administration intraveineuse (donc sans absorption systémique); ce qui n'est pas toujours réalisable dans un contexte clinique.

Dans la présente étude, nous avons démontré qu'il était possible de caractériser l'absorption systémique de la ropivacaïne directement à partir du profil d'évolution temporelle des concentrations plasmatiques et ce, sans nécessiter une administration intraveineuse. En effet, de nombreux prélèvements sanguins échelonnés sur une longue

période de temps ont permis de bien caractériser l'absorption lente du médicament, qui se terminait 44.9 +/- 14.1 h suivant l'administration du bloc du nerf fémoral (Figure 30).

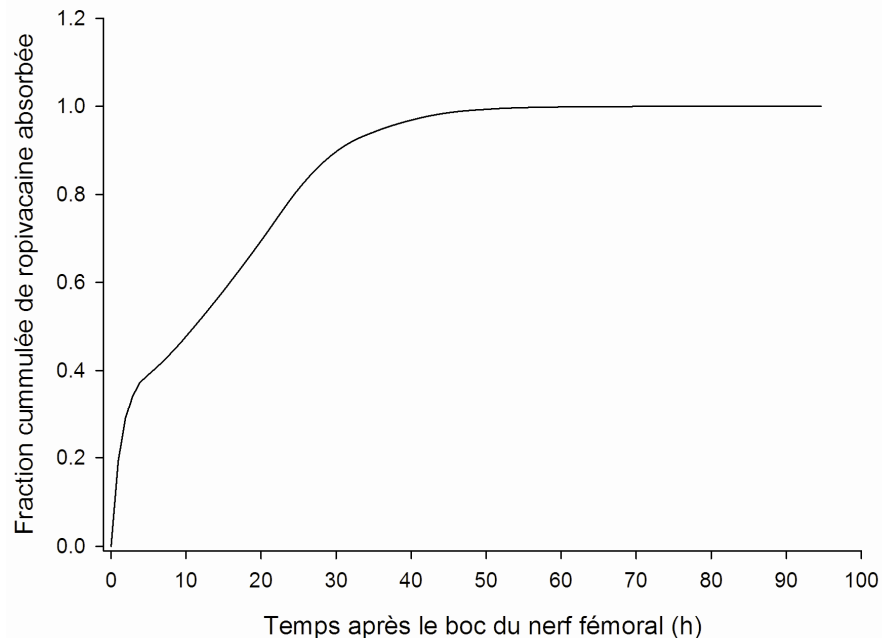


Figure 32 Fraction cumulée absorbée de ropivacaïne en fonction du temps chez le profil typique de population. L'absorption a été caractérisée en déconvoluant les concentrations plasmatiques en se servant des données IV de la littérature.⁵⁹

Nous avons constaté que la demi-vie terminale calculée chez nos patients orthopédiques (6.0 h +/- 2.1) était plus élevée que celle rapportée dans la littérature (1.9 h +/- 1.1) après administration intraveineuse chez des sujets sains (n = 6, âgés entre 19 et 34 ans).⁶¹ Il faut cependant mentionner que dans cette étude, les temps d'échantillonnage étaient sensiblement plus courts, ce qui a sûrement contribué à cette discordance. L'hypothèse selon laquelle une augmentation du degré de liaison aux protéines plasmatiques chez les patients opérés pouvait diminuer l'élimination de ce médicament à coefficient d'extraction hépatique modéré ($E_h \sim 0.5$) méritait d'être vérifiée (Annexe II).

Les résultats obtenus après ultrafiltration suggèrent une augmentation significative ($p < 0.001$) du pourcentage de liaison aux protéines, passant de 89.2 +/- 3.7 % (au temps zéro) à 93.3 +/- 3.3 % dans les heures (entre 33 et 93 h) suivant la chirurgie. Cela

représente une diminution d'environ 40 % de la fraction libre (de 10.8 % à 6.7 %). Ainsi, l'augmentation des niveaux plasmatiques d'alpha-1-glycoprotéine rapportée en post opératoire mais non documentée dans la présente étude, pourrait avoir causé une diminution de la clairance totale de la ropivacaïne et, par conséquent, une augmentation de la demi-vie terminale chez les patients orthopédiques. Toutefois, ce changement n'aurait pas d'impact sur la concentration libre du médicament, celle qui est responsable de l'activité pharmacologique. De plus, notre modèle doit utiliser la concentration totale pour prédire la quantité de médicaments qui demeure au site de dépôt, ce qui rend l'utilisation de la concentration libre plasmatique inutile.

L'âge relativement élevé de nos patients (médiane: 62, écart : 45 – 74 ans) pourrait également avoir contribué à diminuer la clairance de la ropivacaïne, tel que rapporté chez des patients subissant une chirurgie abdominale (n = 43, médiane : 63, écart : 46 – 83 ans).¹¹⁹ En effet, le vieillissement s'accompagne souvent d'une réduction de la masse hépatique et du débit sanguin hépatique¹³⁵ qui se traduisent, notamment, par un besoin de doses plus faibles de certains agents anesthésiques. Ces effets ont été clairement démontrés avec les benzodiazépines.¹³⁶ Tel n'est cependant pas le cas pour les anesthésiques locaux qui, en dépit des altérations pharmacocinétiques induites par le processus de vieillissement,¹³⁷ n'ont jamais nécessité une titration systématique de la dose chez les aînés.

iii) Modélisation de l'absorption systémique de la ropivacaïne après le bloc du nerf fémoral : le choix du modèle final

Dans le modèle final de pharmacocinétique de population, nous avons émis comme présupposition que l'absorption systémique de la ropivacaïne augmentait de façon progressive avec le temps. Immédiatement après l'injection, une quantité importante du médicament (estimée à environ 70 % de la dose administrée) diffuse selon son gradient de concentration dans les structures graisseuses avoisinantes, engendrant du même coup une diminution drastique des concentrations de ropivacaïne au site de dépôt. Avec le temps, le relargage progressif de l'anesthésique local provenant de ces tissus adipeux permettra une augmentation graduelle du taux d'absorption de l'agent jusqu'à l'atteinte d'un état stationnaire, reflété par le plateau observé au niveau des concentrations

plasmatiques. Cet équilibre de distribution est atteint après 5-7 fois la demi-vie d'absorption estimée à ~ 3.5 h, soit approximativement 25 h suivant le bloc du nerf fémoral. Comparativement aux blocs centraux, l'équilibre survient beaucoup plus lentement, permettant ainsi de bien distinguer la redistribution progressive de l'anesthésique local en provenance des tissus adipeux (second Cmax).

Bien qu'essentiellement empirique, notre modèle possède tout de même une réalité physiologique. En effet, une relation statistiquement significative entre l'âge de nos patients et la redistribution lente de l'agent a été identifiée, suggérant une augmentation de la perméabilité tissulaire avec l'âge. Les modifications structurelles et fonctionnelles qui accompagnent le vieillissement pourraient notamment se traduire par un besoin plus élevé d'anesthésique local lors d'un bloc nerveux périphérique, tel qu'illustré dans la figure suivante :

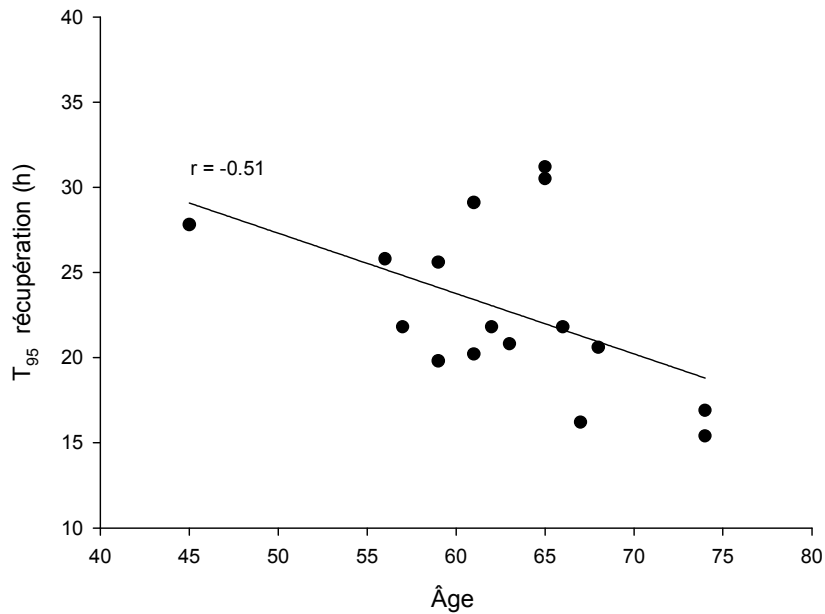


Figure 33 Relation statistiquement significative ($p < 0.05$) entre la durée du bloc sensitif (dernier moment où 95 % de l'effet maximal possible est observé) et l'âge de nos patients orthopédiques ($n = 19$) ayant reçu une administration unique (20 mL) de chlorhydrate de ropivacaine 0.5 % pour le bloc du nerf fémoral.

Une détérioration de la gaine de myéline chez les patients âgés¹³⁷ pourrait avoir accentué la perméabilité de l'agent ce qui, parallèlement à la diminution de temps de contact avec l'axoplasme, diminuerait son effet anesthésiant. Cependant, le faible nombre de sujets à l'étude combiné à la gamme d'âges plutôt restreinte de nos patients ne permet pas d'émettre toute recommandation au niveau d'un ajustement de la dose chez les aînés. En effet, une exclusion de l'analyse du patient âgé de 45 ans rendrait la relation entre l'âge et la durée du bloc sensitif non significative ($r = - 0.45$, $p = 0.091$). D'autres études seront donc nécessaires, avec différentes strates d'âge, pour mieux caractériser cet effet.

iv) Modélisation de la relation PK-PD du bloc du nerf fémoral : utilisation d'un compartiment effet virtuel

Contrairement à la plupart des médicaments, les anesthésiques locaux produisent leur effet pharmacologique à proximité du site d'administration, sans avoir à transiter de la circulation sanguine vers le site d'action (biophase). En effet, la présence de ces agents dans le sang est normalement indésirable, étant associée à une faible efficacité et une augmentation du risque de toxicité systémique. Étant donné que les niveaux plasmatiques potentiellement toxiques de la ropivacaïne sont déjà connus, une bonne caractérisation de l'absorption systémique permettra de mieux évaluer la quantité de médicaments nécessaire au site d'administration du médicament pour obtenir l'effet anesthésique souhaité, tout en évitant une exposition toxique.

Dans la présente étude, nous avons démontré qu'il était possible d'établir la relation PK-PD de la composante sensitive du bloc du nerf fémoral induit par la ropivacaïne en se servant des concentrations prédites au site d'action (biophase) par notre modèle pharmacocinétique. Idéalement, un échantillonnage au pourtour du nerf (neurocinétique) aurait été souhaitable, mais l'obtention de telles données, généralement obtenues par microdialyse, serait difficile à justifier chez l'humain d'un point de vue éthique.

D'après notre modèle, il existerait un demi-temps d'équilibre d'environ 35 min entre le site de dépôt et le site d'action; ce délai reflète la vitesse de diffusion de l'anesthésique local au travers des différentes couches tissulaires du nerf fémoral. Suite au dépôt de l'agent, un gradient de concentration élevé assure une quantité de médicaments

supérieure à la valeur seuil nécessaire pour bloquer un nombre suffisant de canaux sodiques. L'intensité du potentiel d'action décroît alors progressivement le long des nœuds de Ranvier adjacents. Comme la distance internodale augmente généralement avec la longueur de la fibre, un bloc sensitif complet du nerf fémoral prendra plus de temps à s'établir qu'une anesthésie rachidienne, où l'équilibre de distribution entre le dépôt et le site d'action est atteint beaucoup plus rapidement (voir section 1.1.3).

D'autres facteurs, comme la présence de tissu conjonctif, pourraient également influencer la diffusion de l'anesthésique local et par conséquent, son efficacité. En effet, une étude sur un cadavre a démontré que la densité du tissu conjonctif intra et périnerveux augmentait des régions proximales vers les plus distales,¹³⁸ expliquant du même coup le plus lent début d'action en périphérie. Ultiment, le bloc sensitif s'estompera en fonction de la diffusion de l'agent dans les structures vasculaires et graisseuses avoisinantes. En agissant comme réservoir, les tissus adipeux prolongent la durée d'action de l'anesthésique local. Les structures vasculaires, quant à elles, permettent au médicament d'être acheminé vers la circulation systémique.

v) **Modélisation de la relation PK-PD de la rachianesthésie**

La modélisation PK-PD de la rachianesthésie peut être vue comme étant une description mathématique des processus impliqués dans la distribution locale du médicament au niveau de l'espace intrathécal. Ces processus, survenant après l'administration de l'anesthésique local au site d'injection, consiste en une propagation longitudinale et une diffusion passive à travers le liquide céphalorachidien vers le site d'action. Le demi-temps d'équilibre de distribution en le site de dépôt et le compartiment effet (les méninges) est d'environ 8 min, tel qu'estimé par notre modèle populationnel. De même, ce dernier estime qu'environ 7 mg de ropivacaïne serait nécessaire pour engendrer 50 % de l'effet maximal possible. Pour une administration unique de 17.5 mg de ropivacaïne, cela correspondrait à un bloc sensitif au dermatome L2 d'une durée approximative de 3.5 h.

À l'instar du bloc du nerf fémoral, l'absorption systémique est le résultat final des processus impliqués dans la distribution locale du médicament. Ainsi, la vitesse d'absorption systémique de l'anesthésique local contient de l'information sur la relation

entre le bloc nerveux et la quantité de médicaments restante au site d'administration ou à proximité. Cependant, les concentrations exactes au site d'action ne sont pas connues. Pour la ropivacaïne intrathécale, l'absorption systémique peut être caractérisée par une combinaison parallèle de deux constantes de vitesse de premier ordre, l'une d'elles étant précédée d'un délai de distribution (ou d'absorption) d'environ 18 min. La demi-vie d'absorption initiale de la ropivacaïne est d'approximativement 54 min et similaire à celle de la bupivacaïne spinale ($t_{1/2}$: 50 min) rapportée chez des patients orthopédiques (n = 12, âge : 22 – 50 ans, poids : 52 – 90 kg).¹³⁹ L'absorption systémique initiale plus lente observée après une administration intrathécale comparativement à une Périurale ($t_{1/2}$ ropivacaine: ~ 11 min)⁵⁹ serait attribuable à des différences de vascularisation au niveau de ces espaces respectifs. De fait, l'espace épidual est davantage vascularisé, ce qui assure un drainage efficace du tissu neuronal et de l'épine dorsale tout en permettant une résorption rapide de l'anesthésique local vers la circulation systémique. À titre de comparaison, la perfusion de l'espace intrathécal, en particulier par les vaisseaux sanguins de la pie-mère et de la moelle épinière, est moins importante et, par conséquent, l'absorption systémique est susceptible d'y être plus lente.

vi) Critique de l'approche populationnelle

Nous avons vu dans cette thèse que l'approche populationnelle comporte de nombreux avantages. Elle permet notamment l'obtention d'informations nécessaires pour la détermination du régime posologique optimal. En outre, elle renseigne sur le niveau de variabilité pharmacocinétique et/ou pharmacodynamique ainsi que sur les sources de variabilité. Cependant, il existe un certain nombre de limites inhérentes à son utilisation.

D'abord, le choix des covariables est souvent délicat car leur influence dépend de leur représentation dans la population cible qui devrait idéalement être hétérogène. Comme les patients qui subissent une arthroplastie du genou font partie d'une population plutôt homogène, il importe de prendre des précautions quant à la généralisation des conclusions tirées de nos modèles. Par ailleurs, certains modèles populationnels sont parfois complexes ce qui peut entraîner des durées d'analyse relativement longues. De plus, la régression non-linéaire à effet mixte fait appel à des concepts pharmaco-

statistiques qui nécessitent une réelle connaissance et compréhension de ces principes. Une collaboration étroite en statisticiens et pharmacologues est alors envisageable, bien que l'on constate peu à peu une émergence de programmes de formation spécifiques au domaine de la pharmacométrie.

Conclusion et perspectives

Au cours des vingt dernières années, la modélisation par approche populationnelle a non seulement permis d'explorer et de comprendre les mécanismes impliqués dans le devenir du médicament, mais aussi de quantifier et d'expliquer, grâce à l'ajout de covariables, les sources de variabilité au sein d'une population cible de patients. En pratique, cela se traduit par une meilleure utilisation du médicament et, par conséquent, une amélioration de la pharmacothérapie.

Appliquée au domaine de l'anesthésie locorégionale, les approches de population ont généré des avancées majeures dans la connaissance et la compréhension des sources de variabilité des anesthésiques locaux et leur effet pharmacologique. La variabilité des paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques est considérablement réduite et l'intensité et la durée de leur action anesthésique peut maintenant être prédite *a priori*. Cependant, l'utilisation de ces modèles est innovante pour l'anesthésie locorégionale. En effet, les doses et régimes d'administration des anesthésiques locaux utilisés pour le traitement de la douleur péri-opératoire n'ont pas fait l'objet d'une analyse satisfaisante. Notons aussi que, bien que plusieurs publications aient fait état de relations entre les paramètres PK et/ou PD et certaines caractéristiques propres aux individus (âge, sexe, poids...), une telle adaptation posologique n'est toujours pas utilisée dans nos hôpitaux.

Les travaux issus de cette thèse nous ont permis d'en apprendre davantage sur le comportement sensitif de l'anesthésie rachidienne et périphérique. La fiabilité d'un biomarqueur quantitatif permettant de caractériser l'évolution spatiotemporelle du bloc sensitif a été démontrée. Cet outil pourrait être utilisé en clinique afin de mieux prédire l'efficacité des blocs nerveux. Ultimement, nos modèles PK-PD permettront de mieux prédire l'impact d'un changement de dose au niveau de la durée d'action de la ropivacaïne et, par conséquent, améliorer l'utilisation clinique de ce médicament reconnu pour son efficacité et sa faible toxicité.

BIBLIOGRAPHIE

1. Okifuj A, Turk DC, Kalauokalani D: Clinical outcome and economic evaluation of multidisciplinary pain centers, Handbook of pain syndromes: Biopsychosocial perspectives Edited by A.R. Block, E.F. Kremer, Fernandez E. Mahwah, NJ, Lawrence Erlbaum, 1999, pp 77-98
2. Lynch M: Sommet canadien de Douleur 2012, 2012
3. Liebeskind JC: Pain can kill. Pain 1991; 44: 3-4
4. Kim S: Changes in surgical loads and economic burden of hip and knee replacements in the US: 1997-2004. Arthritis Rheum 2008; 59: 481-8
5. Information CIHF: Hip and Knee Replacement in Canada Annual Report, 2008-2009
6. Gouvernement C: The Wait Times Issue and the Patient Wait Times Guarantee, 2009
7. Pagnano MW, Hebl J, Horlocker T: Assuring a painless total hip arthroplasty: a multimodal approach emphasizing peripheral nerve blocks. J Arthroplasty 2006; 21: 80-4
8. Wang H, Boctor B, Verner J: The effect of single-injection femoral nerve block on rehabilitation and length of hospital stay after total knee replacement. Reg Anesth Pain Med 2002; 27: 139-44
9. Horlocker TT, Kopp SL, Pagnano MW, Hebl JR: Analgesia for total hip and knee arthroplasty: a multimodal pathway featuring peripheral nerve block. J Am Acad Orthop Surg 2006; 14: 126-35
10. Stein BE, Srikumaran U, Tan EW, Freehill MT, Wilckens JH: Lower-extremity peripheral nerve blocks in the perioperative pain management of orthopaedic patients: AAOS exhibit selection. J Bone Joint Surg Am 2012; 94: e167

11. Marchand S: Neurophysiologie de la douleur, Pharmacologie de la douleur. Edited by Beaulieu P. Montréal, Les Presses de l'Université de Montréal, 2007
12. Cahana A, Forster A: Système nerveux autonome et douleur, Pharmacologie de la douleur. Edited by Beaulieu P. Montréal, Les Presses de l'Université de Montréal, 2007
13. Strichartz G, Pastijn E, Sugimoto K: Neural Physiology and Local Anesthetic Action, Neural Blockade In Clinical Anesthesia and Pain Medicine, 4 edition. Edited by Cousins M, Bridenbaugh P, Carr D, Horlocker T. New York, Lippincott Williams & Wikins, 2009, pp 26-47
14. Mazoit JX: Pharmacologie des anesthésiques locaux, Pharmacologie de la douleur. Edited by Beaulieu P. Montréal, Les Presses de l'Université de Montréal, 2007
15. Hille B: Ionic Channels of Excitable Membranes, 3rd edition. Sunderland, MA, Sinauer Associates, 2001
16. Rang HP, Ritchie JM: On the electrogenic sodium pump in mammalian non-myelinated nerve fibres and its activation by various external cations. *J Physiol* 1968; 196: 183-221
17. Butterworth JFt, Strichartz GR: Molecular mechanisms of local anesthesia: a review. *Anesthesiology* 1990; 72: 711-34
18. Ragsdale DS, McPhee JC, Scheuer T, Catterall WA: Molecular determinants of state-dependent block of Na⁺ channels by local anesthetics. *Science* 1994; 265: 1724-8
19. Bokesch PM, Post C, Strichartz G: Structure-activity relationship of lidocaine homologs producing tonic and frequency-dependent impulse blockade in nerve. *J Pharmacol Exp Ther* 1986; 237: 773-81
20. Hille B: Local anesthetics: hydrophilic and hydrophobic pathways for the drug-receptor reaction. *J Gen Physiol* 1977; 69: 497-515
21. Chernoff DM, Strichartz GR: Kinetics of local anesthetic inhibition of neuronal sodium currents. pH and hydrophobicity dependence. *Biophys J* 1990; 58: 69-81

22. Coyle DE, Porembka DT, Sehlhorst CS, Wan L, Behbehani MM: Echocardiographic evaluation of bupivacaine cardiotoxicity. *Anesth Analg* 1994; 79: 335-9
23. Raymond SA, Steffensen SC, Gugino LD, Strichartz GR: The role of length of nerve exposed to local anesthetics in impulse blocking action. *Anesth Analg* 1989; 68: 563-70
24. Drachman D, Strichartz G: Potassium channel blockers potentiate impulse inhibition by local anesthetics. *Anesthesiology* 1991; 75: 1051-61
25. Gokin AP, Philip B, Strichartz GR: Preferential block of small myelinated sensory and motor fibers by lidocaine: in vivo electrophysiology in the rat sciatic nerve. *Anesthesiology* 2001; 95: 1441-54
26. Gu XQ, Fryirs B, Mather LE: High-performance liquid chromatographic separation and nanogram quantitation of bupivacaine enantiomers in blood. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1998; 719: 135-40
27. Nau C, Vogel W, Hempelmann G, Brau ME: Stereoselectivity of bupivacaine in local anesthetic-sensitive ion channels of peripheral nerve. *Anesthesiology* 1999; 91: 786-95
28. Denson DD, Behbehani MM, Gregg RV: Enantiomer-specific effects of an intravenously administered arrhythmogenic dose of bupivacaine on neurons of the nucleus tractus solitarius and the cardiovascular system in the anesthetized rat. *Reg Anesth* 1992; 17: 311-6
29. Strichartz GR, Sanchez V, Arthur GR, Chafetz R, Martin D: Fundamental properties of local anesthetics. II. Measured octanol:buffer partition coefficients and pKa values of clinically used drugs. *Anesth Analg* 1990; 71: 158-70
30. Mather LE, Tucker G: *Neural Physiology and Local Anesthetic Action, Neural Blockade In Clinical Anesthesia and Pain Medicine*, 4 edition. Edited by Cousins M, Bridenbaugh P, Carr D, Horlocker T. New York, Lippincott Williams & Wikins, 2009, pp 58

31. DiFazio CA, Carron H, Grosslight KR, Moscicki JC, Bolding WR, Johns RA: Comparison of pH-adjusted lidocaine solutions for epidural anesthesia. *Anesth Analg* 1986; 65: 760-4
32. Rosenberg P, Heavner J, Kovach K: Dural permeability to epinephrine, bupivacaine, lidocaine and phenol., *New Aspects in Regional Anaesthesia*, 5 edition. Edited by Wust H, Stanton-Hicks M. Heigelberg, Springer-Verlag, 1986
33. Nakamura T, Popitz-Bergez F, Birknes J, Strichartz GR: The critical role of concentration for lidocaine block of peripheral nerve in vivo: studies of function and drug uptake in the rat. *Anesthesiology* 2003; 99: 1189-97
34. Thalhammer JG, Vladimirova M, Bershinsky B, Strichartz GR: Neurologic evaluation of the rat during sciatic nerve block with lidocaine. *Anesthesiology* 1995; 82: 1013-25
35. Mather LE, Tucker G: *Neural Physiology and Local Anesthetic Action, Neural Blockade In Clinical Anesthesia and Pain Medicine*, 4 edition. Edited by Cousins M, Bridenbaugh P, Carr D, Horlocker T. New York, Lippincott Williams & Wikins, 2009, pp 62
36. Tucker GT, Mather LE: Pharmacology of local anaesthetic agents. Pharmacokinetics of local anaesthetic agents. *Br J Anaesth* 1975; 47 suppl: 213-24
37. Tucker GT, Mather LE: Clinical pharmacokinetics of local anaesthetics. *Clin Pharmacokinet* 1979; 4: 241-78
38. Jiang X, Wen X, Gao B, Zhou W, Hu N, Zhang Y, Xu D, Xu Y: The plasma concentrations of lidocaine after slow versus rapid administration of an initial dose of epidural anesthesia. *Anesth Analg* 1997; 84: 570-3
39. Moore DC, Mather LE, Bridenbaugh LD, Thompson GE, Balfour RI, Lyons DF, Horton WG: Bupivacaine (Marcaine): an evaluation of its tissue and systemic toxicity in humans. *Acta Anaesthesiol Scand* 1977; 21: 109-21

40. Mather LE: The acute toxicity of local anesthetics. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2010; 6: 1313-32
41. Denson D, Coyle D, Thompson G, Myers J: Alpha 1-acid glycoprotein and albumin in human serum bupivacaine binding. *Clin Pharmacol Ther* 1984; 35: 409-15
42. Mazoit JX, Denson DD, Samii K: Pharmacokinetics of bupivacaine following caudal anesthesia in infants. *Anesthesiology* 1988; 68: 387-91
43. Corso OH, Morris RG, Hewett PJ, Karatassas A: Safety of 96-hour incision-site continuous infusion of ropivacaine for postoperative analgesia after bowel cancer resection. *Ther Drug Monit* 2007; 29: 57-63
44. Edwards DJ, Lalka D, Cerra F, Slaughter RL: Alpha1-acid glycoprotein concentration and protein binding in trauma. *Clin Pharmacol Ther* 1982; 31: 62-7
45. Clement R, Malinovsky JM, Hildgen P, Dollo G, Estebe JP, Chevanne F, Le Verge R, Le Corre P: Spinal disposition and meningeal permeability of local anesthetics. *Pharm Res* 2004; 21: 706-16
46. Pantuck EJ: Plasma cholinesterase: gene and variations. *Anesth Analg* 1993; 77: 380-6
47. Eggleston ST, Lush LW: Understanding allergic reactions to local anesthetics. *Ann Pharmacother* 1996; 30: 851-7
48. Gantenbein M, Attolini L, Bruguerolle B, Villard PH, Puyou F, Durand A, Lacarelle B, Hardwigsen J, Le-Treut YP: Oxidative metabolism of bupivacaine into pipercolylxylidine in humans is mainly catalyzed by CYP3A. *Drug Metab Dispos* 2000; 28: 383-5
49. Oda Y, Furuichi K, Tanaka K, Hiroi T, Imaoka S, Asada A, Fujimori M, Funae Y: Metabolism of a new local anesthetic, ropivacaine, by human hepatic cytochrome P450. *Anesthesiology* 1995; 82: 214-20

50. Mazoit JX, Beloeil H: Pharmacologie des anesthésiques locaux, Pharmacologie de la douleur. Edited by Beaulieu P. Montréal, Les Presses de l'Université de Montréal, 2005, pp 185
51. Rowland M, Benet LZ, Graham GG: Clearance concepts in pharmacokinetics. *J Pharmacokinet Biopharm* 1973; 1: 123-36
52. Bax ND, Tucker GT, Woods HF: Lignocaine and indocyanine green kinetics in patients following myocardial infarction. *Br J Clin Pharmacol* 1980; 10: 353-61
53. Ochs HR, Carstens G, Greenblatt DJ: Reduction in lidocaine clearance during continuous infusion and by coadministration of propranolol. *N Engl J Med* 1980; 303: 373-7
54. Richard C, Berdeaux A, Delion F, Riou B, Rimailho A, Giudicelli JF, Auzepy P: Effect of mechanical ventilation on hepatic drug pharmacokinetics. *Chest* 1986; 90: 837-41
55. Burm AG, Stienstra R, Brouwer RP, Emanuelsson BM, van Kleef JW: Epidural infusion of ropivacaine for postoperative analgesia after major orthopedic surgery: pharmacokinetic evaluation. *Anesthesiology* 2000; 93: 395-403
56. Nation RL, Triggs EJ, Selig M: Lignocaine kinetics in cardiac patients and aged subjects. *Br J Clin Pharmacol* 1977; 4: 439-48
57. Veering BT, Burm AG, Spierdijk J: Spinal anaesthesia with hyperbaric bupivacaine. Effects of age on neural blockade and pharmacokinetics. *Br J Anaesth* 1988; 60: 187-94
58. Mazoit JX, Lambert C, Berdeaux A, Gerard JL, Froideveaux R: Pharmacokinetics of bupivacaine after short and prolonged infusions in conscious dogs. *Anesth Analg* 1988; 67: 961-6
59. Simon MJ, Veering BT, Vletter AA, Stienstra R, van Kleef JW, Burm AG: The effect of age on the systemic absorption and systemic disposition of ropivacaine after epidural administration. *Anesth Analg* 2006; 102: 276-82

60. Arthur GR, Scott DH, Boyes RN, Scott DB: Pharmacokinetic and clinical pharmacological studies with mepivacaine and prilocaine. *Br J Anaesth* 1979; 51: 481-5
61. Lee A, Fagan D, Lamont M, Tucker GT, Halldin M, Scott DB: Disposition kinetics of ropivacaine in humans. *Anesth Analg* 1989; 69: 736-8
62. Butterworth JF: *Clinical Pharmacology of Local Anesthetics, Neural Blockade In Clinical Anesthesia and Pain Medicine*, 4 edition. Edited by Cousins M, Bridenbaugh P, Carr D, Horlocker T. New York, Lippincott Williams & Wilkins, 2009, pp 97
63. Curatolo M, Petersen-Felix S, Arendt-Nielsen L: Sensory assessment of regional analgesia in humans: a review of methods and applications. *Anesthesiology* 2000; 93: 1517-30
64. Katims JJ: Electrodiagnostic functional sensory evaluation of the patient with pain: a review of the neuroselective current perception threshold and pain tolerance threshold. *Pain Digest* 1998; 8: 219-230
65. Liu S, Kopacz DJ, Carpenter RL: Quantitative assessment of differential sensory nerve block after lidocaine spinal anesthesia. *Anesthesiology* 1995; 82: 60-3
66. Tay B, Wallace MS, Irving G: Quantitative assessment of differential sensory blockade after lumbar epidural lidocaine. *Anesth Analg* 1997; 84: 1071-5
67. Tetzlaff J: *Clinical Pharmacology of Local Anesthetics*. Burlington, MA, Butterworth-Heinemann, 2000
68. Feldman HS, Arthur GR, Covino BG: Comparative systemic toxicity of convulsant and supraconvulsant doses of intravenous ropivacaine, bupivacaine, and lidocaine in the conscious dog. *Anesth Analg* 1989; 69: 794-801
69. Gissen AJ, Covino BG, Gregus J: Differential sensitivity of fast and slow fibers in mammalian nerve. III. Effect of etidocaine and bupivacaine on fast/slow fibers. *Anesth Analg* 1982; 61: 570-5

70. Brau ME, Vogel W, Hempelmann G: Fundamental properties of local anesthetics: half-maximal blocking concentrations for tonic block of Na⁺ and K⁺ channels in peripheral nerve. *Anesth Analg* 1998; 87: 885-9
71. Albright GA: Cardiac arrest following regional anesthesia with etidocaine or bupivacaine. *Anesthesiology* 1979; 51: 285-7
72. Freedman JM, Li DK, Drasner K, Jaskela MC, Larsen B, Wi S: Transient neurologic symptoms after spinal anesthesia: an epidemiologic study of 1,863 patients. *Anesthesiology* 1998; 89: 633-41
73. Mather LE, Chang DH: Cardiotoxicity with modern local anaesthetics: is there a safer choice? *Drugs* 2001; 61: 333-42
74. Di Gregorio G, Neal JM, Rosenquist RW, Weinberg GL: Clinical presentation of local anesthetic systemic toxicity: a review of published cases, 1979 to 2009. *Reg Anesth Pain Med* 2010; 35: 181-7
75. Lavy C, James A, Wilson-MacDonald J, Fairbank J: Cauda equina syndrome. *BMJ* 2009; 338: b936
76. Rigler ML, Drasner K, Krejcie TC, Yelich SJ, Scholnick FT, DeFontes J, Bohner D: Cauda equina syndrome after continuous spinal anesthesia. *Anesth Analg* 1991; 72: 275-81
77. Lambert LA, Lambert DH, Strichartz GR: Irreversible conduction block in isolated nerve by high concentrations of local anesthetics. *Anesthesiology* 1994; 80: 1082-93
78. Hashimoto K, Hampl KF, Nakamura Y, Bollen AW, Feiner J, Drasner K: Epinephrine increases the neurotoxic potential of intrathecally administered lidocaine in the rat. *Anesthesiology* 2001; 94: 876-81
79. Schneider M, Ettlin T, Kaufmann M, Schumacher P, Urwyler A, Hampl K, von Hochstetter A: Transient neurologic toxicity after hyperbaric subarachnoid anesthesia with 5% lidocaine. *Anesth Analg* 1993; 76: 1154-7

80. Pollock JE, Liu SS, Neal JM, Stephenson CA: Dilution of spinal lidocaine does not alter the incidence of transient neurologic symptoms. *Anesthesiology* 1999; 90: 445-50
81. Drasner K, Rigler ML, Sessler DI, Stoller ML: Cauda equina syndrome following intended epidural anesthesia. *Anesthesiology* 1992; 77: 582-5
82. Hogan Q, Dotson R, Erickson S, Kettler R, Hogan K: Local anesthetic myotoxicity: a case and review. *Anesthesiology* 1994; 80: 942-7
83. Hunter DG, Lam GC, Guyton DL: Inferior oblique muscle injury from local anesthesia for cataract surgery. *Ophthalmology* 1995; 102: 501-9
84. Komai H, Lokuta AJ: Interaction of bupivacaine and tetracaine with the sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} release channel of skeletal and cardiac muscles. *Anesthesiology* 1999; 90: 835-43
85. Steer JH, Mastaglia FL, Papadimitriou JM, Van Bruggen I: Bupivacaine-induced muscle injury. The role of extracellular calcium. *J Neurol Sci* 1986; 73: 205-17
86. Cumming WJ, Hudgson P: Morphometric comparison of Duchenne's muscular dystrophy and experimental bupivacaine myopathy. *Acta Neuropathol Suppl* 1981; 7: 305-7
87. Clarkson CW, Hondeghem LM: Mechanism for bupivacaine depression of cardiac conduction: fast block of sodium channels during the action potential with slow recovery from block during diastole. *Anesthesiology* 1985; 62: 396-405
88. de La Coussaye JE, Brugada J, Allessie MA: Electrophysiologic and arrhythmogenic effects of bupivacaine. A study with high-resolution ventricular epicardial mapping in rabbit hearts. *Anesthesiology* 1992; 77: 132-41
89. Mazoit JX, Decaux A, Bouaziz H, Edouard A: Comparative ventricular electrophysiologic effect of racemic bupivacaine, levobupivacaine, and ropivacaine on the isolated rabbit heart. *Anesthesiology* 2000; 93: 784-92

90. Aya AG, de la Coussaye JE, Robert E, Ripart J, Cuvillon P, Mazoit JX, Jeannes P, Fabbro-Peray P, Eledjam JJ: Comparison of the effects of racemic bupivacaine, levobupivacaine, and ropivacaine on ventricular conduction, refractoriness, and wavelength: an epicardial mapping study. *Anesthesiology* 2002; 96: 641-50
91. Lynch C, 3rd: Depression of myocardial contractility in vitro by bupivacaine, etidocaine, and lidocaine. *Anesth Analg* 1986; 65: 551-9
92. Eledjam JJ, de la Coussaye JE, Brugada J, Masse C, Desh G, d'Athis F, Sassine A: Cardiac electrophysiological effects of bupivacaine in the anesthetized dog: relation with plasma concentration. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1988; 295: 147-56
93. Harris WH, Cole DW, Mital M, Laver MB: Methemoglobin formation and oxygen transport following intravenous regional anesthesia using prilocaine. *Anesthesiology* 1968; 29: 65-9
94. Duncan PG, Kobrinsky N: Prilocaine-induced methemoglobinemia in a newborn infant. *Anesthesiology* 1983; 59: 75-6
95. Beal SL, Sheiner LB: Estimating population kinetics. *Crit Rev Biomed Eng* 1982; 8: 195-222
96. Sheiner LB: The population approach to pharmacokinetic data analysis: rationale and standard data analysis methods. *Drug Metab Rev* 1984; 15: 153-71
97. Sheiner LB, Beal SL: Evaluation of methods for estimating population pharmacokinetics parameters. I. Michaelis-Menten model: routine clinical pharmacokinetic data. *J Pharmacokinet Biopharm* 1980; 8: 553-71
98. Sheiner LB, Beal SL: Bayesian individualization of pharmacokinetics: simple implementation and comparison with non-Bayesian methods. *J Pharm Sci* 1982; 71: 1344-8
99. 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

100. Heeremans EH, Proost JH, Eleveld DJ, Absalom AR, Struys MM: Population pharmacokinetics and pharmacodynamics in anesthesia, intensive care and pain medicine. *Curr Opin Anaesthesiol* 2010; 23: 479-84
101. Wong D, Colburn WA, Gibaldi M: Fitting concentration--time data to biexponential equations. *J Pharmacokinet Biopharm* 1979; 7: 97-100
102. Gibaldi M, Perrier D: *Pharmacokinetics*. New York and Basel, 1982
103. Olofsen E, Burm AG, Simon MJ, Veering BT, van Kleef JW, Dahan A: Population pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of epidural anesthesia. *Anesthesiology* 2008; 109: 664-74
104. Sharma A, Jusko WJ: Characteristics of indirect pharmacodynamic models and applications to clinical drug responses. *Br J Clin Pharmacol* 1998; 45: 229-39
105. Gabrielsson J, Weiner D: *Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Data Analysis: Concepts and Applications.*, 2000
106. Karlsson MO, Savic RM: Diagnosing model diagnostics. *Clin Pharmacol Ther* 2007; 82: 17-20
107. Ludden TM, Beal SL, Sheiner LB: Comparison of the Akaike Information Criterion, the Schwarz criterion and the F test as guides to model selection. *J Pharmacokinet Biopharm* 1994; 22: 431-45
108. Beal S, Sheiner L, Boeckmann A, Bauer R: *NONMEM User's guides*. Elliot City, MD, USA, Icon Development Solutions, 2009
109. Ette EI: *Pharmacometrics: The Science of Quantitative Pharmacology*, Wiley, 2007
110. Urien S: La pharmacocinétique de population, aspects fondamentaux. *La lettre du pharmacologue* 2003; 17: 97-102
111. Semmar N, Bruguerolle B, Boullu-Ciocca S, Simon N: Cluster analysis: an alternative method for covariate selection in population pharmacokinetic modeling. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2005; 32: 333-58

112. Bies RR, Muldoon MF, Pollock BG, Manuck S, Smith G, Sale ME: A genetic algorithm-based, hybrid machine learning approach to model selection. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2006; 33: 195-221
113. Ribbing J, Nyberg J, Caster O, Jonsson EN: The lasso--a novel method for predictive covariate model building in nonlinear mixed effects models. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2007; 34: 485-517
114. Ette EI: Stability and performance of a population pharmacokinetic model. *J Clin Pharmacol* 1997; 37: 486-95
115. Ette EI, Onyiah LC: Estimating inestimable standard errors in population pharmacokinetic studies: the bootstrap with Winsorization. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 2002; 27: 213-24
116. Yano Y, Beal SL, Sheiner LB: Evaluating pharmacokinetic/pharmacodynamic models using the posterior predictive check. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2001; 28: 171-92
117. Gaudreault F, Drolet P, Fallaha M, Varin F: A population pharmacokinetic model for the complex systemic absorption of ropivacaine after femoral nerve block in patients undergoing knee surgery. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2012; 39: 635-42
118. Curatolo M, Petersen-Felix S, Arendt-Nielsen L: Assessment of regional analgesia in clinical practice and research. *Br Med Bull* 2004; 71: 61-76
119. Cusato M, Allegri M, Niebel T, Ingelmo P, Broglia M, Braschi A, Regazzi M: Flip-flop kinetics of ropivacaine during continuous epidural infusion influences its accumulation rate. *Eur J Clin Pharmacol* 2011; 67: 399-406
120. Snoeck MM, Vree TB, Gielen MJ, Lagerwert AJ: Steady state bupivacaine plasma concentrations and safety of a femoral "3-in-1" nerve block with bupivacaine in patients over 80 years of age. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2003; 41: 107-13
121. Casati A, Fanelli G, Magistris L, Beccaria P, Berti M, Torri G: Minimum local anesthetic volume blocking the femoral nerve in 50% of cases: a double-blinded

comparison between 0.5% ropivacaine and 0.5% bupivacaine. *Anesth Analg* 2001; 92: 205-8

122. Fanelli G, Casati A, Beccaria P, Aldegheri G, Berti M, Tarantino F, Torri G: A double-blind comparison of ropivacaine, bupivacaine, and mepivacaine during sciatic and femoral nerve blockade. *Anesth Analg* 1998; 87: 597-600

123. Greengrass RA, Klein SM, D'Ercole FJ, Gleason DG, Shimer CL, Steele SM: Lumbar plexus and sciatic nerve block for knee arthroplasty: comparison of ropivacaine and bupivacaine. *Can J Anaesth* 1998; 45: 1094-6

124. Wille M: Intrathecal use of ropivacaine: a review. *Acta Anaesthesiol Belg* 2004; 55: 251-9

125. van Kleef JW, Veering BT, Burm AG: Spinal anesthesia with ropivacaine: a double-blind study on the efficacy and safety of 0.5% and 0.75% solutions in patients undergoing minor lower limb surgery. *Anesth Analg* 1994; 78: 1125-30

126. Wahedi W, Nolte H, Klein P: [Ropivacaine for spinal anesthesia. A dose-finding study]. *Anaesthesist* 1996; 45: 737-44

127. Gautier PE: Intrathecal ropivacaine. *Acta Anaesthesiol Belg* 2000; 51: 127-9

128. Gautier PE, De Kock M, Van Steenberge A, Poth N, Lahaye-Goffart B, Fanard L, Hody JL: Intrathecal ropivacaine for ambulatory surgery. *Anesthesiology* 1999; 91: 1239-45

129. Zink W, Graf BM: Benefit-risk assessment of ropivacaine in the management of postoperative pain. *Drug Saf* 2004; 27: 1093-114

130. Korhonen AM: Use of spinal anaesthesia in day surgery. *Curr Opin Anaesthesiol* 2006; 19: 612-6

131. Curatolo M, Petersen-Felix S, Arendt-Nielsen L, Lauber R, Hogstrom H, Scaramozzino P, Luginbuhl M, Sieber TJ, Zbinden AM: Adding sodium bicarbonate to lidocaine enhances the depth of epidural blockade. *Anesth Analg* 1998; 86: 341-7

132. Jochum D, O'Neill T, Jabbour H, Diarra PD, Cuignet-Pourel E, Bouaziz H: Evaluation of femoral nerve blockade following inguinal paravascular block of Winnie: are there still lessons to be learnt? *Anaesthesia* 2005; 60: 974-7
133. Curatolo M, Petersen-Felix S, Arendt-Nielsen L, Fischer M, Zbinden AM: Temporal summation during extradural anaesthesia. *Br J Anaesth* 1995; 75: 634-5
134. Wagner JG: Pharmacokinetic absorption plots from oral data alone or oral/intravenous data and an exact Loo-Riegelman equation. *J Pharm Sci* 1983; 72: 838-42
135. Wakabayashi H, Nishiyama Y, Ushiyama T, Maeba T, Maeta H: Evaluation of the effect of age on functioning hepatocyte mass and liver blood flow using liver scintigraphy in preoperative estimations for surgical patients: comparison with CT volumetry. *J Surg Res* 2002; 106: 246-53
136. Shafer S: Pharmacologie des agents anesthésiques chez les patients âgés, L'anesthésie du sujet âgé. Saint-Germain en Laye : CRI. Edited by JEPU, 2000, pp 335-51
137. Sadean MR, Glass PS: Pharmacokinetics in the elderly. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2003; 17: 191-205
138. Moayeri N, Bigeleisen PE, Groen GJ: Quantitative architecture of the brachial plexus and surrounding compartments, and their possible significance for plexus blocks. *Anesthesiology* 2008; 108: 299-304
139. Burm AG, Van Kleef JW, Vermeulen NP, Olthof G, Breimer DD, Spierdijk J: Pharmacokinetics of lidocaine and bupivacaine following subarachnoid administration in surgical patients: simultaneous investigation of absorption and disposition kinetics using stable isotopes. *Anesthesiology* 1988; 69: 584-92

ANNEXES



Health
Canada Santé
Canada

Direction des Produits Thérapeutiques
5ième étage, Holland Cross, Tour B
Indice de l'adresse # 3105A
OTTAWA, Ontario
K1A 0K9

Your file Votre référence

Our file Notre référence

15 décembre 2009

9427-U0190-26C

France Varin, B.Pharm, Ph.D.
Faculté de Pharmacie, Université de Montréal
C.P. 6128, succursale centre-ville
MONTRÉAL, Québec
H3C 3J7
(514) 343-7016

Lettre de Non Objection RE: Protocole # PKPDSPINAL-001

Cher Dr. Varin:

Il me fait plaisir de vous informer que la revue de l'information et du matériel regardant votre demande d'essai clinique avec **ROIIVACAINE/BUPIVACAINE**, dont le numéro de contrôle est **133457**, et reçu le 16 novembre 2009, a été complétée et que nous n'avons aucune objection à la conduite de l'étude proposée.

Je voudrais vous rappeler de la nécessité de vous conformer avec le Titre 5 du *Règlement sur les Aliments et drogues*, concernant la vente de ce/ces produits pour fins d'études cliniques. De plus, selon ce même Règlement, il incombe au promoteur la responsabilité de tenir des registres sur l'étude clinique autorisée.

Il est aussi requis que toute étude clinique doit être conduite en conformité avec la ligne directrice "Les bonnes pratiques cliniques" de la Direction des produits thérapeutiques.

Si vous avez des questions concernant cette lettre, n'hésitez pas à contacter le soussigné au (613) 952-8115.

Sincèrement,

Geoffrey Ebere, Ph.D.

Gestionnaire par intérim - Groupe d'essais cliniques II
Bureau des essais cliniques

Canada

Liaison aux protéines-³H ROPIVACAINE Plasma humain

Références

Cameron, M. In vitro Plasma Protein Binding of Neuromuscular Blocking Agents in Different Subpopulations of Patients. *Anesth Analg.* **81** : 1019-1025, 1995

Arvidsson, T. Determination of free concentration of ropivacaine and bupivacaine in blood plasma by ultrafiltration and coupled-column liquid chromatography. *J Chrom B* **668**: 91-98, 1995

Procédure pour échantillons « in vitro »

rinçer centrifugee à l'eau HPLC

- 1- Ajuster la température du bain (incubation-agitation Dubnoff) à 37°C avec le thermomètre digital, la sonde demeure dans un tube témoin tout au long de l'expérience.
- 2- Pipetter 2.0 ml de plasma vierge dans un tube de verre conique (le volume est dépendant de la concentration finale désirée)
Déposer le tube dans le bain, Pré-incubation d'environ 5-10 minutes
Noter le pH initial du plasma et par la suite.
- 3- Pendant ce temps : Ajuster le pH autour de 7.40 en ajoutant le tampon HEPES, à l'aide d'une pipette, 2 à 5µl à la fois
Noter les pH et les volumes utilisés
- 4- Avant le temps «0 min », ajouter la solution de Ropivacaine « froide » et ³H-Ropivacaine avec seringue Hamilton. Agiter au vortex.
Noter le pH et ajuster avec tampon HEPES pour atteindre un de pH 7.39-7.41 (volume pré-déterminé) et partir le temps chrono «0 min ». On peut préparer un tube de 2 ml H₂O et ajouter la ropi, cela servira de comparaison pour la solution diluée.
- 5- Incuber pendant 5 minutes
Noter régulièrement : Température, pH, Volume de Tampon HEPES nécessaire pour maintenir le pH désiré.
- 6- Après 5 minutes d'incubation, retirer le tube du bain
Agiter au vortex
- 7- Prélever 0.750 ml de plasma et déposer dans un Centrifree (pour fraction libre)
Effectuer en duplicata
- 8- Centrifuger immédiatement à 3000 rpm 5 minutes à 37°C (T° de la centrifugeuse préalablement réglée) Noter la température.

- 9- Pendant ce temps, conserver ce qui reste de plasma sur glace (concentration totale)
- 10- Récolter l'ultrafiltrat (UF) du Centrifree et noter le volume, conserver sur glace
- 11- Pipetter 100µl de plasma Total et 100µl de chaque UF dans vial à scintillation. Pipetter aussi 100µl de la solution dans H₂O
- 12- Ajouter 5 ml de liquide à scintillation, agiter au vortex et déposer au frigo (4°C) de 1 à 2h00 avant de passer au compteur Beta.
Blanc : 5 ml de liquide à scintillation
F1 et F2 : 2 frottis pour évaluer contamination.
- 13- Congeler les échantillons de plasma et UF résiduels.

Procédure pour échantillons « *in vivo* »

Même méthode que pour la procédure « *in vitro* »

Il ne faut tout simplement pas ajouter de ropivacaine au plasma.

- 1- Pré-incuber l'échantillon (2.0 ml) de plasma prélevé du patient (contenant déjà de la ropivacaine) pendant environ 5 minutes
- 2- Noter le pH initial et ajuster avec tampon HEPES
- 3- Procéder de la même façon pour l'incubation
- 4- Incuber 5 minutes en suivant la procédure « *in vitro* »

IMPORTANT

- A- Ajuster la température de la centrifugeuse à 37°C ou selon, quelques heures auparavant
- B- Ajuster la température du bain d'incubation quelques heures auparavant
- C- Installer la semi-micro électrode et calibrer le pH mètre
- D- Préparer le tampon HEPES la veille

Tampon HEPES 2M: 1 ml H₂O HPLC
953 mg HEPES, ajouter graduellement
Agiter avec micro-agitateur
Compléter à 2 ml
Conserver au frigo dans un tube PP

Calcul pour le facteur de correction pour le volume utilisé.

Pas nécessaire avec utilisation de ³H-Ropivacaine

- on peut alors calculer la fraction liée: % libre = (DPM libre/DPM total x 100) on soustrait le libre pour avoir le % lié
- Avec 10% de liaison non-spécifique, Arvidsson 1995, considère qu'elle est négligeable lors d'un pourcentage de 90% et plus de liaison aux protéines. C'est le cas pour la ropivacaine.

Date	Patient	Conc.ropi	Temps	Liaison	Liaison	Augmentation	INCUBATION (moyennes)			
liaison	#	LP-2	LP-2	LP-1	LP-2	de liaison	pH	Temp.	pH	Temp.
		(ng/ml)	hre, min	(%)	(%)	(%)	LP-1	LP-1	LP-2	LP-2
01-nov-11	1	4.3	93	92.3	96.2	4.2	7.41	37.0	7.40	36.9
01-nov-11	2	0	94	90.1	94.5	4.9	7.40	37.0	7.41	37.0
	3									
15-nov-11	4	45.9	45, 56	80.2	86.1	7.4	7.41	37.0	7.41	37.0
14-nov-11	5	75.8	56,29	88.7	94.1	6.1	7.40	37.0	7.42	37.0
14-nov-11	6	0	68,27	89.5	93.9	5.0	7.41	37.0	7.41	37.1
14-nov-11	7	10.6	50	91.2	94.8	3.9	7.41	37.0		37.2
09-nov-11	8	26.4	69,44	91.3	95.7	4.8	7.39	36.9	7.41	36.9
	9									
09-nov-11	10	7.1	74,10	81.3	92.4	13.7	7.40	36.8	7.41	36.9
15-nov-11	11	99.9	tube 13 43.	87.1	89.4	2.6	7.41	36.9	7.38	36.9
28-oct-11	12	0	74	92.4	93.2	0.9	7.40	37.1	7.39	37.1
	13	157.4	34							
28-oct-11	14	0	79,46	77.6	93.5	20.5	7.41	37.2	7.40	37.1
09-nov-11	15	23.5	73,38	92.0	95.0	3.3	7.40	36.9	7.41	36.9
01-nov-11	16	18.1	57,54	87.2	93.9	7.6	7.40	37.0	7.40	37.0
15-déc-11	17*	2.4	76,28	86.0	90.4	5.1	7.41	37.0	7.40	36.8
15-déc-11	18	0	75,26	87.3	91.7	5.0	7.41	36.8	7.40	36.9
15-déc-11	19	0	71,16	89.1	92.6	3.8	7.41	36.9	7.41	36.9
	20									
17*(LP1 3 min 32.5 ng/ml)										
			Moyenne	87.7	93.0	6.2	7.4	37.0	7.4	37.0
			Mediane	88.9	93.7	4.9	7.4	37.0	7.4	37.0
			± S.D.	4.5	2.6	4.7	0.0	0.1	0.0	0.1
			% C.V.	5.1	2.8		0.1	0.3	0.1	0.3