

# Le benzodiazepine: azioni e usi relativi all'anestesia del cane e del gatto. Una revisione narrativa



Le molecole più comunemente utilizzate sono il diazepam, il midazolam e il flumazenil. Le prime due aumentano l'affinità del recettore GABA<sub>A</sub> per il GABA, risultando clinicamente con sedazione, miorilassamento ed effetti anticonvulsivanti. Il flumazenil è un antagonista competitivo usato come antidoto.

Le benzodiazepine vengono utilizzate in virtù della loro attività anticonvulsivante, il rapido *onset* e le differenti vie di somministrazione disponibili. Altre applicazioni interessanti sono nel trattamento della paura e, in misura molto minore, nella protezione cerebrale. Nell'ambito prettamente anestesilogico, tuttavia, i *pro* di tali farmaci, ovvero la stabilità cardiorespiratoria e l'azione miorilassante, vengono controbilanciati se non superati dai *contro* (eccitamento paradossale, metabolismo epatico ed elevato legame proteico) a fronte di una sedazione inaffidabile e di una relativa utilità nella co-induzione. Grazie al minimo impatto sul cardiorespiratorio, le benzodiazepine troverebbero la loro maggiore indicazione in animali critici, tuttavia tale popolazione è stata ancora poco indagata.



Elena Lardone\*,  
Med Vet, PhD



Alessandra Landi\*,  
Med Vet



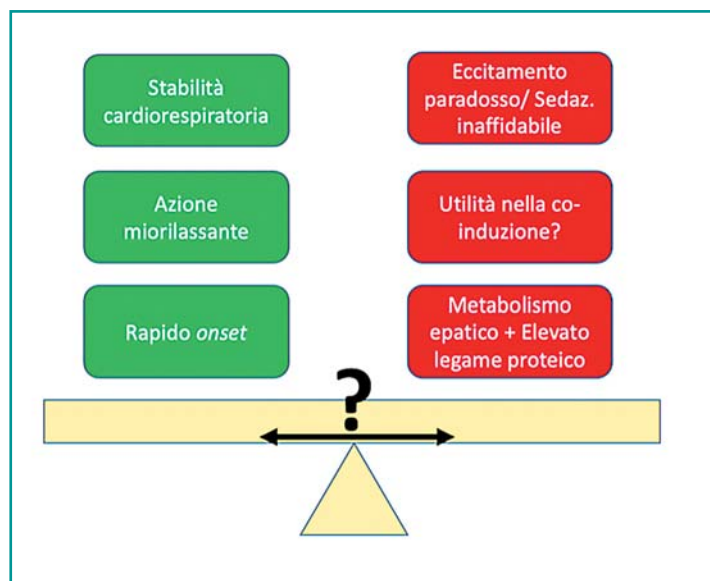
Paolo Franci\*,  
Med Vet, Cert,VA,  
Dipl. ECVA

## INTRODUZIONE

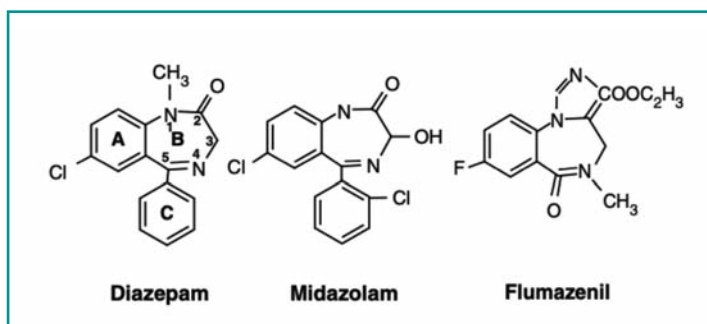
Revisionando il ruolo delle benzodiazepine nella pratica clinica veterinaria, emergono delle caratteristiche sicuramente molto utili quali, per esempio, la loro attività anticonvulsivante, il rapido *onset* e le differenti vie di somministrazione disponibili. Vi sono, inoltre, altre applicazioni che rendono tali molecole interessanti come nel trattamento dell'ansia e della paura e, in misura molto minore, nella protezione cerebrale. Nell'ambito prettamente anestesilogico, tuttavia, i *pro* di tali farmaci, ovvero la stabilità cardiorespiratoria e l'azione miorilassante, vengono controbilanciati se non superati dai *contro* (eccitamento paradossale, metabolismo epatico ed elevato le-

**I vantaggi sono la stabilità cardiorespiratoria e l'azione miorilassante, mentre gli svantaggi sono l'eccitamento paradossale, il metabolismo epatico, l'elevato legame proteico e la sedazione blanda. L'utilità nella co-induzione è controversa.**

\*Università degli Studi di Torino, Dipartimento di Scienze Veterinarie, Largo Paolo Braccini 2- 10095 - Grugliasco (TO), Italia.



**Figura 1** - Rappresentazione schematica dei principali pro e contro delle benzodiazepine in Anestesia Veterinaria.



**Figura 2** - Struttura chimica delle due benzodiazepine maggiormente utilizzate in anestesia clinica veterinaria (Diazepam e Midazolam) e del loro antagonista (Flumazenil). A = anello benzenico; B = anello diazepamico; C = gruppo arilico.

game proteico) a fronte di una sedazione inaffidabile e di una relativa utilità nella co-induzione (Fig. 1).

## FARMACOLOGIA

### Proprietà chimico-fisiche

Tutte le benzodiazepine sono caratterizzate da una struttura chimica composta dalla fusione di un anello benzenico e un anello diazepamico. Le molecole agoniste anestesiológicamente rilevanti in Medicina Veterinaria presentano, inoltre, un gruppo arilico (agonisti) (Fig. 2).

Le caratteristiche chimico-fisiche del midazolam, diazepam e flumazenil sono riassunte nella Tabella 1.

Dal punto di vista chimico, il diazepam è il 7-cloro-1,3-diidro-1-metil-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepin-2-one. Essendo pressoché insolubile in acqua, il diazepam è formulato in soluzione con un solvente organico come il glicole propilenico e l'etanolo. Ha un pH di 6.6-6.9 e può causare dolore all'iniezione intramuscolare ed endovenosa in quanto è viscoso. Può, inoltre, causare tromboflebiti se somministrato in vena. La formulazione in glicole propilenico, registrata per uso umano, è sconsigliata a causa degli effetti collaterali del veicolo (ipotensione e, nel gatto, tossicità)<sup>36</sup>. Subisce fotodegradazione e tende a legarsi con la plastica se è esposto alla luce per lunghi periodi<sup>1,2</sup>.

Il midazolam ha caratteri strutturali simili al diazepam, ma appartiene alla più recente classe degli imidazobenzodiazepine<sup>4</sup>. In quanto tale, a pH fortemente acidi (< 4.0) è altamente solubile in acqua grazie all'apertura dell'anello diazepamico e, quindi, non è formulato con solventi, diminuendo così l'irritazione venosa e, potenzialmente, le aritmie<sup>4,5,6</sup>. A pH fisiologici, invece, si ha la chiusura di tale anello e, conseguentemente, il farmaco diventa liposolubile e capace di attraversare rapidamente la barriera ematoencefalica causando effetti centrali<sup>3</sup>. Come il diazepam, anche il midazolam è sensibile alla luce e va incontro a fotodegradazione.

### Azione farmacologica a livello recettoriale

Le benzodiazepine agiscono principalmente sul SNC (Sistema Nervoso Centrale) tramite un potenziamento o una facilitazione della trasmissione sinaptica GABA-ergica.

L'acido gamma aminobutirrico (GABA) è il principale neurotrasmettitore inibitorio nel SNC. Le benzodiazepine aumentano l'affinità del recettore GABA<sub>A</sub> per il GABA, portando ad un aumento della conduttanza del cloro e, quindi, ad un'iperpolarizzazione di membrana

**Facilitano la trasmissione GABA-ergica risultando clinicamente con sedazione, miorilassamento ed effetti anticonvulsivanti. Il flumazenil è un antagonista competitivo usato come antidoto.**

**Tabella 1 - Caratteristiche chimico-fisiche: dati da Dollery 1991 (12).**

	Peso molecolare (daltons)	pK <sub>a</sub>	Idrosolubilità	Liposolubilità
Midazolam	325.8	6.2	buona a pH<4	buona a pH>4
Diazepam	284.7	3.2	povera	buona
Flumazenil	303.3	1.7	moderata	povera

**Tabella 2 - Variabili farmacocinetiche di diazepam e midazolam nel cane.**

	Clearance (ml/kg/min)	Vd (l/kg)	Legame proteico (%)
Diazepam	35.0 (Boxenbaum, 1981)	23.6 (Boxenbaum, 1981)	99.9 (Boxenbaum, 1981)
Midazolam	27.0 (Court, 1992)	3.0 (Court, 1992)	96 (Court, 1992)

postsinaptica<sup>10</sup>. L'azione agonista delle benzodiazepine su tali recettori risulta clinicamente con sedazione, ansiolisi, miorelaxamento ed effetti anticonvulsivanti tipici di tali farmaci.

Barbiturici, etomidate e propofol hanno tutti azione agonista sui recettori GABA<sub>A</sub> e possono, quindi, avere effetti sinergici, risultando in una significativa depressione del SNC.

Nel 1977, sono stati individuati recettori specifici per le benzodiazepine diffusamente distribuiti a livello encefalico, nonché nel rene, fegato, cuore e polmone<sup>7,8</sup>. Le benzodiazepine sembrano interagire, infatti, con varie strutture cerebrali per realizzare i loro effetti<sup>9</sup>, anche se l'azione depressante il SNC da parte del diazepam si realizza soprattutto a carico della formazione reticolare del peduncolo cerebrale<sup>7</sup>. Il midazolam ha un'affinità recettoriale maggiore rispetto a quella del diazepam e, quindi, è più potente di quest'ultimo<sup>13</sup>. Gli antagonisti per i recettori delle benzodiazepine hanno affinità per il recettore ma poca o nessuna attività intrinseca, bloccando, quindi, gli effetti degli agonisti. Il flumazenil è attualmente l'unico antagonista competitivo per le benzodiazepine commercialmente disponibile in Europa<sup>11</sup>.

### Farmacocinetica

Le principali variabili farmacocinetiche nel cane di diazepam e midazolam sono riassunte nella Tabella 2, mentre la durata dell'emivita media di eliminazione dopo somministrazione endovenosa di diazepam, nordiazepam e midazolam per il cane e il gatto sono riportate nella Tabella 3.

Il diazepam è rapidamente assorbito dal tratto gastroenterico ed è metabolizzato dagli enzimi microsomiali epatici per via ossidativa<sup>26, 27, 28</sup>. I metaboliti attivi sono denominati nordiazepam e oxazepam. Il suo assorbimento a livello muscolare è, invece, scarso.

La potenza del midazolam è circa tre volte maggiore del diazepam<sup>14</sup>. Dopo somministrazione endovenosa, il midazolam è caratterizzato da una distribuzione molto rapida e relativamente estesa, seguita da una rapida eliminazione<sup>32</sup>. Il midazolam è assorbito velocemente a seguito di somministrazione intramuscolare con una biodisponibilità maggiore del 90% e un picco plasmatico di 15 minuti<sup>29</sup>. A differenza del diazepam, quindi, il midazolam può essere somministrato per via intramuscolare, rendendo la sua somministrazione possibile anche in animali non cooperativi o sprovvisti di catetere endovenoso. La biodisponibilità enterale è elevata ma influenzata dal pH gastroenterico<sup>30</sup>. Come il diazepam, anche il midazolam è metabolizzato per via epatica.

**Elevato metabolismo epatico e legame proteico le rendono poco consigliate nel paziente epatopatico e nefropatico.**

Poiché entrambi i farmaci subiscono metabolismo epatico ed hanno un elevato legame proteico, la loro somministrazione a pazienti con ridotta funzionalità epatica richiede particolare cautela, in quanto l'eliminazione epatica può essere ridotta con conseguenti effetti prolungati<sup>88</sup>. Negli animali con encefalopatia epatica, invece, il loro utilizzo non è consigliato in quanto possono manifestare una maggiore risposta alle benzodiazepine, con aggravamento della malattia<sup>88</sup>. Nel paziente con insufficienza renale acuta o gravemente acidotico, azotemico o ipoproteinemico, è bene diminuire le dosi di benzodiazepina in quanto la frazione libera ed attiva di farmaco è maggiore<sup>18</sup>. In caso di danno renale acuto, inoltre, il midazolam potrebbe avere un minor metabolismo epatico: per un meccanismo ancora sconosciuto, infatti,

**Tabella 3 - Emivita media di eliminazione di diazepam, nordiazepam (metabolita attivo) e midazolam dopo somministrazione endovenosa nel cane e nel gatto.**

Emivita media di eliminazione (ore)		
	Cane	Gatto
Diazepam	3.2 (Loscher e Frey, 1981)	5.46 (Cotler, 1984)
Nordiazepam	3.6 (Ahboucha, 2012)	21.3 (Cotler, 1984)
Midazolam	1.3 (Court, 1992)	1.3 (Dolhikia, 2020)

ti, l'attività del CYP3A (un enzima associato con il sistema P450 epatico) diminuisce con l'aumentare della severità e della durata del danno renale acuto<sup>88</sup>.

### Stabilità cardiovascolare

A dosaggi clinici, le benzodiazepine producono effetti trascurabili a carico dell'apparato cardiovascolare.

Nel cane, frequenza cardiaca, contrattilità miocardica, gittata cardiaca e pressione arteriosa sono pressoché invariate dopo un'iniezione endovenosa di diazepam (0.5, 1.0 e 2.5 mg/kg)<sup>18</sup>.

Si riscontra un modesto aumento di frequenza cardiaca dopo somministrazione di midazolam (0.25 mg/kg EV)<sup>14</sup>.

Nel cane normovolemico, sono apprezzate alterazioni minime nella stabilità emodinamica dopo somministrazione di larghe dosi di midazolam (1.0 e 10 mg/kg EV). A tali dosaggi si riportano una diminuzione della contrattilità miocardica e della pressione arteriosa media per riduzione delle resistenze periferiche, con mantenimento del *cardiac output* grazie all'aumento della frequenza cardiaca. L'ipotensione potrebbe essere correlata all'azione centrale del farmaco sui centri vasomotori<sup>20</sup>. L'effetto ipotensivo del midazolam sembra essere dato principalmente dalla venodilatazione che è in parte compensata dalla mobilizzazione ematica splancica nel torrente circolatorio<sup>16</sup>. In caso di ipotensione acuta la tachicardia compensatoria è attenuata o assente e il meccanismo alla base è sconosciuto<sup>17</sup>. Nell'uomo è descritta una riduzione dell'attività dei barorecettori legata alla somministrazione sia di diazepam sia di midazolam e questo potrebbe limitare la capacità di compensazione emodinamica in caso di ipovolemia<sup>15</sup>.

**Sono caratterizzate da un minimo impatto cardiorespiratorio.**

### Mantenimento della ventilazione

Le benzodiazepine deprimono minimamente la funzione respiratoria<sup>7</sup>.

Con la somministrazione di dosaggi clinici di diazepam si riporta, infatti, una minima depressione ventilatoria e dell'*oxygen delivery* nel cane<sup>18</sup>. I valori dell'emogasanalisi, inoltre, rimangono invariati dopo dosi di diazepam da 0.05 a 0.4 mg/kg nel cavallo<sup>19</sup>.

Si presume che gli effetti del midazolam sulla ventilazione siano simili a quelli riportati per il diazepam<sup>18</sup>. Nel cane, il midazolam ha, inoltre, un effetto spasmolitico sulla broncocostrizione indotta da istamina e tale effetto non è reversato dalla somministrazione di flumazenil. Tale evidenza suggerisce un suo utilizzo in animali asmatici durante la ventilazione meccanica senza peggioramen-

to della broncocostrizione<sup>21</sup>.

Nell'uomo, le benzodiazepine causano una riduzione del volume tidale, con una depressione ventilatoria che può divenire clinicamente significativa qualora vengano somministrate con oppioidi<sup>25</sup>. Gli effetti di alte dosi di benzodiazepine sull'apparato respiratorio si espletano tramite due meccanismi: il primo riguarda il miorilassamento della muscolatura delle prime vie aeree, predisponendo al rischio di ostruzione<sup>22</sup>; il secondo riguarda la riduzione della risposta ventilatoria all'aumento dell'anidride carbonica<sup>23</sup>. Una risposta diminuita all'ipossia è riportata in condizioni di ipercapnia<sup>24</sup>. È, quindi, consigliato un monitoraggio adeguato del paziente con malattia polmonare ostruttiva cronica.

### Azione sul Sistema Nervoso Centrale

#### *Modificazioni del comportamento*

Gli effetti clinici delle benzodiazepine sono ansiolisi, disinteresse nei confronti dell'ambiente esterno e, a dosi elevate, sedazione ed ipnosi. Nell'uomo è, inoltre, riportata amnesia anterograda, ovvero la mancanza del ricordo degli eventi accaduti durante l'azione del farmaco.

A differenza della Medicina Umana dove le benzodiazepine rappresentano la prima scelta per l'ansiolisi, in Medicina Veterinaria la loro azione sedativa non è affidabile in quanto può indurre la manifestazione di comportamenti normalmente repressi, come l'aggressività e l'ansia. Il gatto sembrerebbe più facilmente reagire in maniera aberrante a questo tipo di farmaco<sup>7</sup> e a risultare meno sedato<sup>37</sup>, come in genere gli animali giovani e sani<sup>36</sup>. Per questo motivo, si raccomanda l'utilizzo delle benzodiazepine in associazione ad altri sedativi soprattutto in animali agitati, giovani e/o sani. Variazioni di densità e di affinità dei recettori per le benzodiazepine potrebbero essere alla base di tale disparità nella frequenza e nella severità delle risposte eccitatorie tra le diverse specie.

#### *Trattamento dell'ansia e della paura*

Le benzodiazepine possono essere impiegate nel trattamento dei disturbi comportamentali nei quali l'ansia e la paura siano dei fattori contribuenti in quanto agiscono sia sull'ipotalamo sia sul sistema limbico. Per quanto riguarda l'aggressività, la letteratura non è unanime: l'utilizzo di benzodiazepine può sia aumentare sia diminuire tale comportamento e ciò sembrerebbe dipendere da numerosi fattori, tra i quali la specie, il sesso, il tipo di aggressività, la molecola utilizzata e la dose.

Nel cane le dosi riportate di diazepam sono: 0.5 - 2.0 mg/kg ogni 4 ore; mentre nel gatto 0.1-1.0 mg/kg ogni 4 ore<sup>42</sup>.

#### *Miorilassamento*

Le benzodiazepine hanno un'azione miorilassante di ori-



gine centrale in quanto modificano i riflessi polisinnaptici a livello soprasspinale<sup>38</sup>.

Nell'uomo, è stata descritta una significativa depressione della sensibilità del riflesso delle prime vie aeree dopo iniezione di diazepam e di midazolam<sup>54</sup>.

Il diazepam è in grado di prolungare o potenziare l'azione miorilassante degli agenti di blocco neuromuscolare non depolarizzanti, ma tale interazione non appare clinicamente significativa<sup>7</sup>.

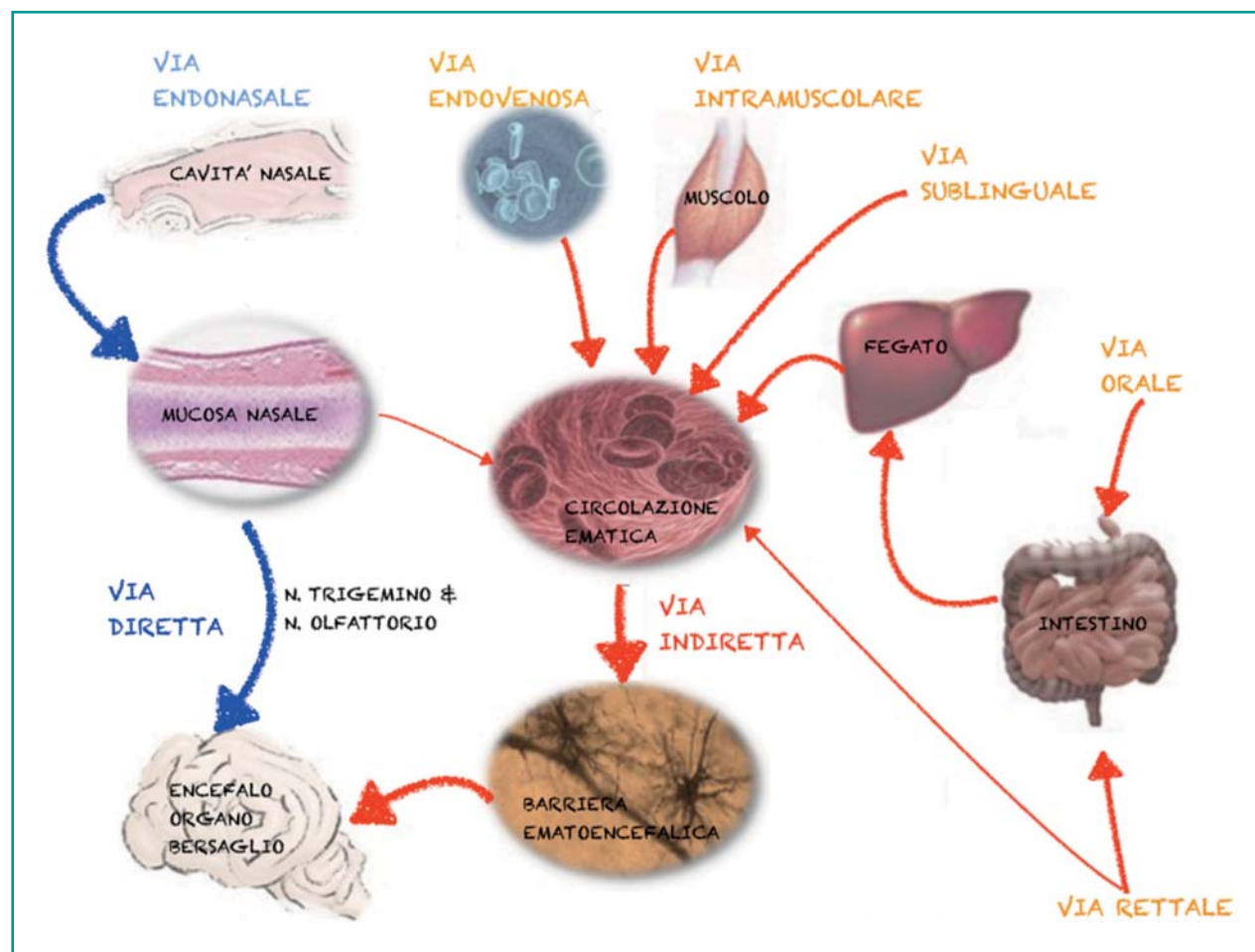
#### Azione anticonvulsivante

Grazie alla loro azione anticonvulsivante, le benzodiazepine trovano un grande utilizzo nel trattamento degli stati epilettici, del tetano, delle convulsioni tossiche da metaldeide e in quelle provocate da iperdosaggio di anestetici locali<sup>7</sup>. Quando sono utilizzate come anticonvulsivanti, vengono generalmente adottati dosaggi maggiori rispetto a quelli sedativi. Il diazepam è utilizzato a 0.5-1.0 mg/kg per via endovenosa o endorettale nel cane e nel gatto. In

caso di dosi ripetute, bisogna tener in considerazione che i metaboliti attivi del diazepam hanno azione sedativa ma minima azione anticonvulsivante e che sono escreti più lentamente<sup>7</sup>.

**Mentre la sedazione risulta poco affidabile per slantizzazione di aggressività e ansia, il miorilassamento e l'azione anticonvulsivante sono ben evidenti.**

Per decenni, le benzodiazepine hanno rappresentato il farmaco di prima scelta nella gestione dello *status epilepticus* in virtù della loro elevata potenza e rapido *onset* d'azione. Recentemente, la via di somministrazione intranasale è diventata più comune grazie alle sue caratteristiche uniche (vedi paragrafo seguente), soprattutto per la gestione domiciliare delle convulsioni e dello *status epilepticus* refrattario nel cane<sup>39</sup>.



**Figura 3** - Illustrazione schematica delle diverse vie di somministrazione delle benzodiazepine. La via intranasale è l'unica a disporre di un accesso diretto all'encefalo, evitando l'attraversamento della barriera ematoencefalica (freccie blu). Le altre vie di somministrazione raggiungono l'encefalo indirettamente (freccie rosse) attraverso l'assorbimento ematico sistemico e il passaggio della barriera ematoencefalica. Le vie orale e rettale, inoltre, includono il metabolismo epatico di primo passaggio, fatta eccezione per la parte più craniale del colon.

### Protezione cerebrale

Sia il diazepam sia il midazolam possono essere utilizzati per diminuire non solo il flusso ematico cerebrale (CBF) ma anche consumo cerebrale metabolico di ossigeno ( $CMR_{O_2}$ )<sup>40, 83, 84</sup>.

In uno studio comparativo<sup>40</sup>, è stato dimostrato che a dosaggi clinici (0.2 mg/kg EV) di midazolam e di diazepam (0.3 mg/kg EV) si ha una diminuzione del flusso ematico cerebrale fino a circa il 55% del gruppo controllo. Rispetto al diazepam, dosi crescenti di midazolam (2, 5 e 10 mg/kg) abbassano maggiormente il  $CMR_{O_2}$  e il CBF nel cane. Nello stesso studio, inoltre, si riporta che, nel topo, il midazolam produce una maggiore protezione cerebrale dall'ipossia rispetto al diazepam. Yeh e colleghi<sup>41</sup> riportano una significativa riduzione sia del  $CMR_{O_2}$  sia del CBF, con valori di resistenze cerebrali vascolari pressoché invariati con 0.5 mg/kg EV di midazolam nel cane.

**La via intranasale è l'unica a disporre di un accesso diretto all'encefalo. Le altre vie di somministrazione raggiungono l'encefalo attraverso l'assorbimento sistemico e il passaggio della barriera ematoencefalica. Le vie orale e rettale, inoltre, includono il metabolismo epatico di primo passaggio, fatta eccezione per la parte più craniale del colon.**

### Diverse vie di somministrazione e rapido onset di azione

Nel cane esistono diverse vie di somministrazione delle benzodiazepine, tra le quali: orale, sublinguale, transdermica, endovenosa, intramuscolare, rettale e intranasale (Figura 3).

La somministrazione endovenosa, come quella intramuscolare, non è soggetta al metabolismo di primo passaggio epatico ma presuppone l'attraversamento della barriera ematoencefalica. L'onset di azione è < 2-7 minuti<sup>43, 44</sup> per la via endovenosa, mentre è circa di 15 minuti per quella intramuscolare<sup>45, 46</sup>.

La somministrazione intranasale è peculiare in quanto, oltre al normale assorbimento ematico sistemico, il farmaco penetra direttamente a livello encefalico tramite il nervo trigemino e il nervo olfattorio, sfruttando l'ampia superficie di assorbimento della mucosa nasale, estesamente vascolarizzata, e bypassando l'effetto del metabolismo di primo passaggio epatico. I vantaggi di tale via diretta di assorbimento sono numerosi, tra i quali: aumento dell'efficacia a dosaggi minori, diminuzione del rischio di effetti collaterali sistemici e mancanza dell'attraversamento della barriera ematoencefalica. Quest'ultima caratteristica può essere molto interessante so-

prattutto per la gestione degli stati epilettici in pazienti farmacoresistenti<sup>39</sup>. L'onset di azione riportato è di 5 minuti<sup>47</sup>.

## USO CLINICO

### Sfida della co-induzione

Vi è una vasta letteratura riguardante l'utilizzo delle benzodiazepine nella co-induzione, ma il quesito su una loro effettiva utilità nell'induzione dell'anestesia del cane e del gatto non è ancora stato risposto in modo soddisfacente (Fig. 4).

Storicamente, le benzodiazepine sono state associate alla ketamina per migliorare gli effetti eccitatori associati alle cicloesamine<sup>18, 48, 49</sup> e questa applicazione è ancora molto comune nell'anestesia equina e dei grossi animali.

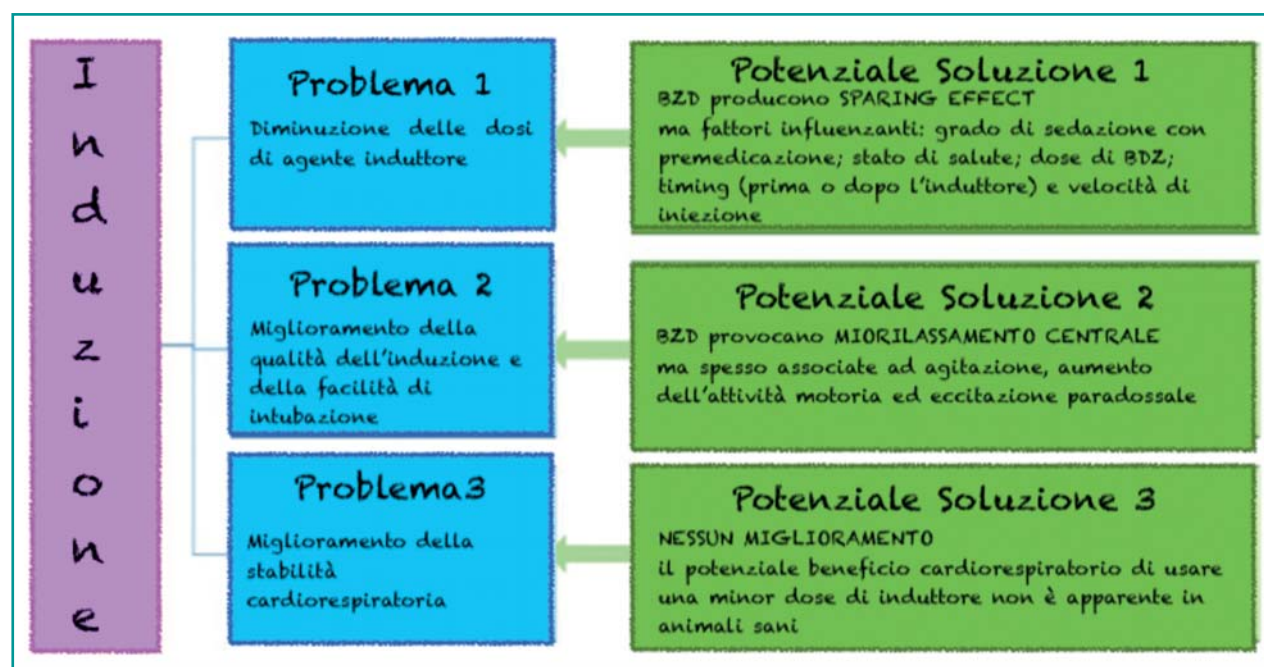
In un passato più recente, sono state somministrate con altri anestetici endovenosi, come il propofol e l'alfaxalone, nell'intento di dimostrare non solo una diminuzione dei dosaggi dell'agente induttore (*sparing effect*) e un miglioramento della qualità e della facilità dell'intubazione orotracheale, ma anche una maggiore stabilità cardiorespiratoria<sup>50, 51, 52</sup>. Nelle Tabelle 4 e 5 vengono riassunti i principali studi su tale argomento.

### *Sparing effect sulla dose dell'anestetico induttore e funzionalità cardiorespiratoria*

Le benzodiazepine hanno azione additiva o sinergica con altri agonisti dei recettori GABA<sub>A</sub> come il propofol, l'etomidate e l'alfaxalone<sup>58, 69</sup>.

Generalizzazioni riguardo il grado di riduzione della dose di induttore dovrebbero essere fatte con cautela in quanto sono influenzate da diversi fattori, tra i quali: il grado di sedazione ottenuto con la premedicazione, la dose di benzodiazepina utilizzata, il *timing* di somministrazione, la velocità di iniezione e lo stato di salute dell'animale<sup>55</sup>. La letteratura riguardante la co-induzione con benzodiazepine è talvolta difficilmente comparabile in quanto è caratterizzata da grande disomogeneità di protocolli, in termini non solo di sedativi utilizzati in premedicazione e, quindi, di grado di sedazione raggiunto, ma anche di tipo (diazepam, midazolam) e di dose di benzodiazepina somministrata (0.2-0.5 mg/kg EV), nonché di velocità e di *timing* di iniezione (prima o dopo l'agente induttore).

Fatta eccezione per due soli lavori<sup>51, 55</sup>, di cui il primo sperimentale, tutti gli studi sono stati condotti su una popolazione sana di cani. Aguilar e colleghi<sup>55</sup> riportano una riduzione significativa del 42% di propofol in cani di classe ASA III e IV sottoposti a chirurgia addominale d'urgenza con un'iniezione di midazolam (0.3 mg/kg EV) dopo un iniziale bolo di propofol. Questo dato è in accordo con quanto descritto negli studi precedenti su una popolazione di cani sani, dove lo *sparing effect* sul propofol varia da 18% a 47%<sup>56, 50, 53, 52, 57, 58</sup>. Per quanto riguarda



**Figura 4** - Rappresentazione schematica dei pro e contro dell'azione delle benzodiazepine nella co-induzione. BZD = benzodiazepine.

l'alfaxalone, invece, lo *sparing effect* riportato è tra il 24% e il 62%<sup>58, 59, 60, 61, 62</sup>.

Clinicamente, il principale scopo della riduzione della dose di induzione è quello di minimizzare la depressione della funzione cardiopolmonare, specialmente in animali critici o di classe ASA maggiore. Tuttavia, in tutti gli studi clinici condotti sul cane sano non è stato apprezzato alcun miglioramento delle variabili cardiopolmonari, così come nello studio di Aguilera sul cane malato<sup>55</sup>.

**L'effettivo beneficio in fase di induzione è controverso, soprattutto per quanto riguarda lo *sparing effect* sulla dose dell'induttore.**

Hopkins e colleghi<sup>52</sup>, inoltre, descrivono una diminuzione significativa della pressione arteriosa sistemica clinicamente accettabile nel cane sano a seguito della co-induzione con midazolam e propofol. Con l'associazione

**Tabella 4 - Principali studi clinici sugli effetti delle benzodiazepine usate nella co-induzione con il propofol. DZ = diazepam; K = ketamina; P = propofol; MD = midazolam; F = fentanyl; SAP = pressione arteriosa sistemica.**

Autore	Popolazione	Benzodiazepina	Risultato
Fayyaz (2009) (51)	Cani ipovolemici	DZ+K/ DZ+P vs ISO	Pressioni arteriose più elevate nel periodo postinduttivo con DZ
Robinson (2013) (50)	Cani sani	DZ+P vs MD+P	↓ P con MD (non dose dipendente)
Sanchez (2013) (53)	Cani sani	MD+P vs P+MD	↓ P e ↓ agitazione del MD se somministrato dopo il P
Ko (2006) (3)	Cani sani	DZ+P vs P	↓ P
Sams (2008) (66)	Cani sani	MZ+P vs P	↓ P
Covey-Crump (2008) (56)	Cani sani	MD+P vs F+P	MD+P non ↓ P; pedalamento
Stegmann (2001) (65)	Cani sani	MD+P vs P	↓ P ma agitazione e ↑ attività motoria
Aguilera (2020) (55)	Cani > ASA III	MD+P vs P	MD ↓ P e miglioramento della qualità di induzione senza miglioramento dei parametri cardiopolmonari
Hopkins (2014) (52)	Cani sani	MD+P vs P	MD ↓ P con ↓ SAP
Liao (2017) (58)	Cani sani	MD+P vs P	MD ↓ P e miglioramento della qualità di induzione e della facilità di intubazione

**Tabella 5 - Principali studi clinici sugli effetti delle benzodiazepine usate nella co-induzione con diversi anestetici iniettabili. MD = midazolam; A = alfaxalone; DZ = diazepam; E = etomidate; L = lidocaina.**

Autore	Popolazione	Benzodiazepina	Risultato
Liao (2017) (58)	Cani sani	MD+A vs A	MD ↓ A e miglioramento della qualità di induzione e della facilità di intubazione
Munoz (2017) (59)	Cani sani	MD+A vs A	MD ↓ A
Zapata (2018) (60)	Cani sani	MD+A vs A+MD	A+MD ↓ A, ↓ agitazione del MD se somministrato dopo l'A, nessun vantaggio sull'apparato cardiorespiratorio
Italiano (2018) (61)	Cani sani	MD+A vs DZ+A	Entrambi ↓ A e miglioramento della facilità di intubazione
Miller (2019) (62)	Cani sani	MD+A	↓ A, nessun vantaggio sull'apparato cardiorespiratorio, apnea
Keating (2019) (63)	Cani sani	MD+E vs L+E	MD ↓ E, miglioramento della qualità di intubazione, nessun vantaggio sull'apparato cardiorespiratorio, pressione intraoculare e cortisolo
Jones (2021) (64)	Cani sani	MD+E	MD ↓ E, miglioramento della qualità di intubazione

di alfaxalone (0.5 mg/kg EV) e midazolam (0.4 mg/kg EV) è addirittura riportata una significativa depressione respiratoria con un'alta incidenza di apnea, seppur non sia associata ad una desaturazione clinicamente significativa dell'emoglobina<sup>62</sup>.

Fino a quando non ci saranno altre evidenze sul cane malato, l'utilizzo della co-induzione con le benzodiazepine non sembrerebbe pienamente giustificato, almeno per quanto riguarda il potenziale beneficio cardiorespiratorio derivante da una minor dose di induttore.

**L'azione miorilassante e la desensibilizzazione dei riflessi delle prime vie aeree contribuiscono a facilitare l'intubazione orotracheale. La qualità dell'induzione, invece, può essere caratterizzata da eccitazione.**

#### *Miglioramento dell'intubazione orotracheale e dell'induzione.*

Un co-induttore ideale dovrebbe migliorare non solo la facilità dell'intubazione orotracheale, ma anche la qualità dell'induzione dell'anestesia generale.

Le benzodiazepine sembrerebbero migliorare la facilità di intubazione in virtù delle loro capacità miorilassanti centrali e dei loro effetti sui riflessi delle prime vie aeree nell'uomo<sup>54</sup> e nel cane<sup>56, 58, 61, 63</sup>. In particolare, l'iterazione tra midazolam e propofol per ottenere l'intubazione orotracheale è stata descritta come sinergica nell'uomo<sup>67, 68</sup>.

Per quanto riguarda la qualità dell'induzione, invece, questa non è sempre migliorata. Le benzodiazepine nel cane

e nel gatto, infatti, non inducono un effetto sedativo/ipnotico dose dipendente, a differenza dell'uomo e di altre specie animali. Tali farmaci possono, inoltre, causare eccitazione paradossa con aumento dell'attività motoria. In fase di induzione vengono, infatti, riportati cambiamenti comportamentali (i cani annusano intensamente le loro zampe anteriori o il tavolo d'induzione)<sup>65</sup>, agitazione<sup>56, 60</sup>, pedalamento, eccitazione (lievi movimenti della testa e degli arti)<sup>53, 56, 65, 66</sup>.

Sebbene la sequenzialità dei farmaci durante la co-induzione sembrerebbe avere un ruolo nella comparsa di tali eventi avversi, con una minore incidenza quando la benzodiazepina è somministrata dopo un' iniziale dose di induttore<sup>60, 53</sup>, l'eccitazione paradossa potrebbe anche essere influenzata dalla velocità di somministrazione e dal tempo intercorso tra l'iniezione della benzodiazepina e quella dell'agente induttore<sup>65, 56, 52</sup>. Ci sono, inoltre, altri fattori influenzanti come il grado di sedazione, la giovane età e l'indole agitata<sup>36</sup>.

Nell'uomo adulto, l'eccitazione da benzodiazepine è rara e la sua origine ancora non chiara. Una teoria ipotizza che l'azione inibitoria di tali farmaci causerebbe una perdita della modulazione corticale<sup>72</sup>. Altri autori suggeriscono una correlazione con gli effetti colinergici centrali, in quanto tale evento avverso sembrerebbe parzialmente antagonizzato dall'uso di inibitori delle colinesterasi come la fisostigmina<sup>73</sup>.

Per quanto riguarda la Medicina Veterinaria, l'attività delle benzodiazepine sul sistema limbico potrebbe produrre disinibizione di comportamenti normalmente repressi dall'apprendimento o dalla socializzazione<sup>70</sup>. Altra causa dell'agitazione paradossale potrebbe essere la rapida



perdita del tono muscolare e della coordinazione che potrebbe portare ad attacchi di panico, fenomeno descritto anche in pediatria<sup>32, 71</sup>. È riportato che, dopo somministrazione di benzodiazepine, i cani annusano intensamente le loro zampe o il tavolo d'induzione e questo potrebbe essere in parte spiegato dal fatto che vi è la più alta densità di recettori per le benzodiazepine nel bulbo olfattorio<sup>32, 65</sup>.

### Altri usi in anestesia veterinaria

#### Premedicazione

A differenza di quanto accade nell'uomo, in Medicina Veterinaria le benzodiazepine non trovano grande applicazione come sedativi. Le dosi consigliate sono 0.2-0.5 mg/kg EV per il diazepam e 0.2-0.3 mg/kg EV/IM per il midazolam. L'effetto è breve e dura circa 30-60 minuti<sup>36</sup>.

Mentre il loro utilizzo come unici agenti in fase di premedicazione è fortemente sconsigliato a causa dell'elevata incidenza di eccitazione paradossale anche a bassi dosaggi (midazolam 0.1 mg/kg EV)<sup>65</sup>, l'uso di una loro combinazione con altri sedativi è controverso.

In cani sani, l'associazione con  $\alpha_2$ -agonisti ha causato una moderata sedazione con un'incidenza del 71% di comportamenti paradossali come agitazione, irrequietezza, reazione esagerata ai rumori, aggressività e vocalizzazioni<sup>74</sup>. Secondo Canfràn e colleghi, inoltre, il midazolam sembrerebbe non avere un significativo effetto additivo con la medetomidina<sup>75</sup>. Nella pratica clinica, il midazolam è a volte utilizzato in un mix con oppioidi,  $\alpha_2$ -agonisti e ketamina nella sedazione profonda di gatti non collaborativi ma in questo caso il reale contributo della benzodiazepina all'effetto sedativo è poco definibile. Un'applicazione interessante è la combinazione di una benzodiazepina con un oppioide  $\mu$ -agonista puro per la sedazione endovenosa di animali critici in cui si voglia attenuare l'impatto emodinamico della premedicazione. L'associazione midazolam e fentanyl è la più comunemente utilizzata<sup>18, 36</sup>. Mancano, tuttavia, studi che investighino questo tipo di utilizzo su una popolazione di cani con classe ASA elevata.

**L'associazione con il fentanyl può essere un'opzione nella sedazione endovenosa di pazienti critici.**

#### Mantenimento dell'anestesia

Vi è un significativo grado di *sparing effect* delle benzodiazepine sulla MAC(NM) (Minima Concentrazione Alveolare che previene il movimento) dell'isofluorano, nel cane, con un effetto tetto di 0.6 mg/kg/h oltre il qua-

le non ci sono ulteriori diminuzioni<sup>79, 77, 65</sup>.

L'induzione con midazolam (0.3 mg/kg EV) diminuisce le dosi di propofol somministrato in TIVA (*Total Intravenous Anesthesia*) in cani sedati con fentanyl<sup>58</sup>.

**Vi è *sparing effect* sulla MAC dell'isofluorano e sui dosaggi somministrati in TIVA di propofol ed alfaxalone, sebbene con quest'ultimo vi siano risvegli inaccettabili.**

Nel cane è riportata, inoltre, una significativa diminuzione dei dosaggi richiesti durante TIVA di alfaxalone<sup>78</sup> con un'infusione continua di midazolam a 0.4 mg/kg/h, preceduta da bolo di carico a 0.2 mg/kg EV. Tale studio, tuttavia, descrive risvegli del tutto inaccettabili caratterizzati da vocalizzazioni, pedalamento e contrazioni muscolari, rendendo necessaria la sedazione con dexmedetomidina al risveglio.

Le benzodiazepine potrebbero avere un ruolo secondario nel mantenimento dell'anestesia in virtù della loro azione miorilassante centrale. Nella pratica clinica, tuttavia, è raccomandato affidarsi a farmaci molto più efficaci e sicuri come gli agenti di blocco neuromuscolare quando è richiesto un certo grado di miorilassamento.

#### Pressione intraoculare

Sia il diazepam sia il midazolam diminuiscono la pressione intraoculare (IOP) dopo somministrazione endovenosa nel gatto e nel cane rispettivamente<sup>85, 86, 87</sup>.

Nel cane, è riportato che il diazepam attenua l'incremento della IOP causata dall'anestesia con propofol ed atracurio, ma non quella data dall'intubazione orotracheale. Tale effetto potrebbe essere dato dal rilassamento dei muscoli extraconali, una diminuzione della produzione di umor acqueo o un'alterazione dell'output nervoso dal SNC che alteri l'omeostasi intraoculare<sup>76</sup>.

#### Flumazenil

Il flumazenil è classificato come antagonista competitivo neutrale delle benzodiazepine, in quanto si lega al recettore senza attivarlo<sup>80</sup>. La somministrazione lenta di tale farmaco, quindi, può essere utilizzata per antagonizzare la sedazione data dalle benzodiazepine così come per trattare l'intossicazione accidentale di tali molecole. Nel cane il dosaggio riportato è 0.01-0.2 mg/kg EV e si consiglia di iniziare con la dose più bassa e ripetere, se necessario, boli ad effetto<sup>18</sup>. Nell'uomo è riportato anche l'uso di infusione endovenosa costante di 0.1-0.4 mg/h nel caso di refrattarietà ai boli<sup>81</sup>.

## CONCLUSIONI

Da quanto emerge dalla letteratura sembra importante

rivisitare il ruolo delle benzodiazepine nella Medicina Veterinaria, principalmente in virtù dell'azione anticonvulsivante e dei grandi potenziali offerti da vie di somministrazione diverse, *in primis* quella intranasale.

Vantaggi e limiti dell'utilizzo di tali molecole nell'ambito strettamente anestesilogico rimangono ancora da definire con nuove e validate evidenze scientifiche.

#### PUNTI CHIAVE

- Diazepam, midazolam e flumazenil sono le benzodiazepine più utilizzate in Medicina Veterinaria.
- Sedazione, miorilassamento ed effetti anticonvulsivanti sono i principali effetti clinici dati dall'aumento dell'affinità del recettore GABA<sub>A</sub> per il GABA.
- Trattamento delle convulsioni e, in misura minore, della paura sono le principali applicazioni, grazie anche al rapido *onset* e alle diverse vie di somministrazione.
- In anestesia i *pro* sono: stabilità cardiorespiratoria e azione miorilassante, mentre i *contro*: eccitamento paradossale, sedazione inaffidabile, relativa utilità nella co-induzione, metabolismo epatico ed elevato legame proteico.
- La maggiore indicazione all'utilizzo delle benzodiazepine in anestesia potrebbe essere negli animali critici, in virtù del minimo impatto sul cardiorespiratorio; tuttavia, tale popolazione è stata ancora poco indagata.

### Benzodiazepines: actions and uses related to the anaesthesia of dogs and cats. A narrative revision.

#### Summary

*The most used molecules are diazepam, midazolam, and flumazenil. The first two increase the affinity of the GABA<sub>A</sub> receptor for GABA, resulting clinically with sedation, muscle relaxation and anticonvulsant effects. Flumazenil is a competitive antagonist used as an antidote.*

*Benzodiazepines are used because of their anticonvulsant activity, rapid onset and different routes of administration available. Other interesting applications are in the treatment of fear and, to a much lesser extent, in brain protection. As far as concern anaesthesiology, however, the pros of such drugs, namely cardiorespiratory stability and muscle relaxant action, are counterbalanced if not overcome by the cons (paradox excitement, liver metabolism and high protein binding) against mild sedation and a relative utility in co-induction. Due to the minimal impact on the cardiorespiratory system, benzodiazepines are more likely to be found in critical animals, but there is little scientific evidence.*

#### BIBLIOGRAFIA

1. Baraldi M, Avallone R, Corsi L, *et al.* Endogenous benzodiazepines. *Therapie* 55: 143-146, 2000.
2. Cortelli P, Avallone R, Baraldi M, *et al.* Endozepines in recurrent stupor. *Sleep Medicine Reviews* 9: 477-487, 2005.
3. Ko JC, Payton ME, White AG, *et al.* Effects of intravenous diazepam or microdose of medetomidine on propofol induced sedation in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association* 42: 28-27, 2006.
4. Greenblatt DJ, Abemethy DR. Midazolam pharmacology and pharmacokinetics. *Anesthesiology Review* 1985;12:17-20.
5. Kanto J, Allonen H. Pharmacokinetics and the sedative effect of midazolam. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics* 21:460-3, 1983.
6. Reves JG, Fragen RJ, Vinik R, *et al.* Midazolam: pharmacology and uses. *Anesthesiology*. 62:310-24, 1985.
7. Booth NM and Mc Donald LE. *Farmacologia e terapeutica veterinaria a cura del Prof. Beretta*. Prima edizione italiana. 1991; pag.420.
8. Gee KM, Yamamura SH, and Roeske WR. 1984. *Fed Proc* 43: 2767.
9. Tallman JF, Paul SM, Skolnick P. 1980. *Science*. 207: 274.
10. Tobias KM, Marion-Henry K, Wagner R. A retrospective study on the use of acepromazine maleate in dogs with seizures. *Journal of the American Animal Hospital Association* 42: 283-289, 2009.
11. Votey SR, Bosse GM, Bayer MJ, *et al.* Flumazenil: a new benzodiazepine antagonist. *Annals of Emergency Medicine* Feb;20(2):181-8. doi: 10.1016/s0196-0644(05)81219-3. PMID: 1996802, 1991.
12. Dollery C (1991) *Therapeutic drugs*. Churchill Livingstone, London.
13. Mould DR, DeFeo TM, Reece S, *et al.* Simultaneous modeling of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of midazolam and diazepam. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 58:35-43, 1995.
14. Jones D, Stehling L, Zauder H. Cardiovascular responses to diazepam and midazolam maleate in the dog. *Anesthesiology* 51: 430-434, 1979.
15. Marty J, Gauzit R, Lefevre P, *et al.* Effects of diazepam and midazolam on baroreflex control of heart rate and on sympathetic activity in humans. *Anesthesia & Analgesia* 65:113-119, 1986.
16. Gelman S, Reves JG, Harris D. Circulatory responses to midazolam anesthesia: emphasis on canine splanchnic circulation. *Anesthesia & Analgesia* Feb;62(2):135-9. PMID: 6829913, 1983.
17. Adams P, Gelman S, Reeves J, *et al.* Midazolam pharmacodynamics

- and pharmacokinetics during acute hypovolemia. *Anesthesiology* 63: 140-146, 1985.
18. Lumb & Jones. 2015. Veterinary anesthesia and analgesia. Page 198.
  19. Muir WW, Sams RA, Huffman RH, *et al.* Pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of diazepam in horses. *American Journal of Veterinary Research* Oct;43(10):1756-62. PMID: 7149375, 1982.
  20. Katzung BG, ed. *Basic and Clinical Pharmacology*, 9<sup>th</sup> edn. New York; McGraw Hill, 2004.
  21. Hirota K, Ohtomo N, Hashimoto Y, *et al.* Midazolam reverses histamine-induced bronchoconstriction in dogs. *Canadian Journal of Anesthesia* 44: 10 1115-1119, 1997.
  22. Norton JR, Ward DS, Karan S, *et al.* Differences between midazolam and propofol sedation on upper airway collapsibility using dynamic negative airway pressure. *Anesthesiology* 104:1155-1164. 2006.
  23. Sunzel M, Paalzow L, Berggren L, *et al.* Respiratory and cardiovascular effects in relation to plasma levels of midazolam and diazepam. *British Journal of Clinical Pharmacology* 25:561-569, 1988.
  24. Alexander CM, Gross JB. Sedative doses of midazolam depress hypoxic ventilatory responses in humans. *Anesthesia & Analgesia* 67:377-382, 1988.
  25. Tverskoy M, Fleyshman G, Ezry J, Bradley EL Jr, *et al.* Midazolam-morphine sedative interaction in patients. *Anesthesia & Analgesia* 68:282-285, 1989.
  26. Ahboucha S, Gamrani H, Baker G. GABAergic neurosteroids: the endogenous benzodiazepines of acute liver failure. *Neurochemistry International* 60: 707-714, 2012.
  27. Treleano A, Wolz G, Brandsch R, *et al.* Investigation into the adsorption of nitro-glycerine and diazepam into PVC tubes and alternative tube materials during application. *International Journal of Pharmaceutics* 369(1-2): 30-37, 2009.
  28. Winsnes M, Jeffsson R, Sjöberg B. Diazepam absorption to infusion sets and plas-tie syringes. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 25: 93-96, 1981.
  29. Matthews NS, Dollar NS, Shauley RV. Halothane sparing effect of benzodiazepines in ponies. *Cornell Veterinarian* 1990; 80: 259-265.
  30. Hellyer PW, Mama KR, Shafford IL, *et al.* Effects of diazepam and flumazenil on minimum alveolar concentrations for dogs anesthetized with isoflurane or a combination of isoflurane and fentanyl. *American Journal of Veterinary Research* 62: 555-560, 2001.
  31. Hubbell JA, Kelly EM, Aarnes TK, *et al.* Pharmacokinetics of midazolam after intravenous administration to horses. *Equine Veterinary Journal* Nov;45(6):721-5. doi: 10.1111/evj.12049. Epub 2013 Mar 12. PMID: 23489241, 2013.
  32. Court MH, Greenblatt DJ. Pharmacokinetics and preliminary observations of behavioral changes following administration of midazolam to dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* Dec;15(4):343-50. doi: 10.1111/j.1365-2885.1992.tb01026.x. PMID: 1487833, 1992.
  33. Dholakia U, Seddighi R, Cox SK, *et al.* Pharmacokinetics of midazolam in sevoflurane-anesthetized cats. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* Mar;47(2):200-209. doi: 10.1016/j.vaa.2019.11.005. Epub 2019 Dec 17. PMID: 31983556, 2020.
  34. Loscher W, Frey HH. Pharmacokinetics of diazepam in the dog. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie* 254: 180-195, 1981.
  35. Cotler S, Gustafson JH, Colburn WA. Pharmacokinetics of diazepam and nordiazepam in the cat. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 73: 348-351, 1984.
  36. Corletto. 2004. *Anestesia del cane e del gatto*. Poletto Editore, Milano.
  37. Biermann K, Hungerbühler S, Mischke R, *et al.* Sedative, cardiovascular, haematologic and biochemical effects of four different drug combinations administered intramuscularly in cats. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* Mar;39(2):137-50. doi: 10.1111/j.1467-2995.2011.00699.x. PMID: 22356415, 2012.
  38. Kanto J, Klotz U. Intravenous benzodiazepines as anaesthetic agents: pharmacokinetics and clinical consequences. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* Dec; 26(6):554-69. doi: 10.1111/j.1399-6576.1982.tb01817.x. PMID: 6130664, 1982.
  39. Charalambous *et al.* *BMC Veterinary Research* 17:103 <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02805-0>, 2021.
  40. Nugent M, Artru A, Michenfelder J. Cerebral metabolic, vascular and protective effects of midazolam maleate. *Anesthesiology* 56: 172-176, 1982.
  41. Yeh F, Chang C, Chen H. Effects of midazolam (a benzodiazepine) on cerebral perfusion and oxygenation in dogs. *Proceedings of the National Science Council, Republic of China. Part B* 12: 174-179, 1988.
  42. Crowell-Davis S. Benzodiazepines: pros and cons for fear and anxiety. (Proceedings). October 1, 2011.
  43. Tesoro EP, Brophy GM. Pharmacological management of seizures and status epilepticus in critically ill patients. *Journal of Pharmacy Practice* 23(5):441-54, 2010.
  44. Bührer M, Maitre PO, Crevoisier C, *et al.* Electroencephalographic effects of benzodiazepines. II. Pharmacodynamic modeling of the electroencephalographic effects of midazolam and diazepam. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 48(5):555-67, 1990.
  45. Silbergleit R, Durkalski V, Lowenstein D, *et al.* Intramuscular versus intravenous therapy for prehospital status epilepticus. *New England Journal of Medicine* 366(7):591-600, 2012.
  46. Welch RD, Nicholas K, Durkalski-Mauldin VL, *et al.* Intramuscular midazolam versus intravenous lorazepam for the prehospital treatment of status epilepticus in the pediatric population. *Epilepsia* 56(2):254-62, 2015.
  47. Joseph S, Eagleson, DVM; Simon R, Platt, BVM&S; Deborah L. Elder Strong, PharmD; Marc Kent, DVM; Anne C. Freeman, DVM; Peter P. Nghiem, DVM; Bo Zheng, PhD; Catherine A. White, PhD. Bioavailability of a novel midazolam gel after intranasal administration in dogs. 2012; 73: 539-545.
  48. Ilkiw JE, Suter CM, McNeal D, *et al.* The effect of intravenous administration of variable dose midazolam after fixed dose ketamine in healthy awake cats. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 19: 217-224, 1996.
  49. Ilkiw JE, Suter CM, McNeal D, *et al.* The optimal intravenous dose of midazolam after intravenous ketamine in healthy awake cats. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 21: 54-61, 1998.
  50. Robinson R, Borer-Weir K. A dose titration study into the effects of diazepam or midazolam on the propofol dose requirements for induction of general anaesthesia in client owned dogs, premedicated with methadone and acepromazine. *Veterinary Anesthesia and Analgesia* 40: 455-463, 2013.
  51. Fayaz S, Kerr CL, Dyson DH, *et al.* The cardiopulmonary effects of anesthetic induction with isoflurane, ketamine- diazepam or propofol-diazepam in the hypo-volemic dog. *Veterinary Anesthesia and Analgesia* 36: 110-120. 2009.
  52. Hopkins A, Giuffrida M, Larenza MP. Midazolam, as a co-induction agent, has propofol sparing effects but also decreases systolic blood pressure in healthy dogs. *Veterinary Anesthesia and Analgesia* 41: 64-72, 2014.
  53. Sanchez A, Belda E, Escobar M, *et al.* Effects of altering the sequence of midazolam and propofol during co-induction of anesthesia. *Veterinary Anesthesia and Analgesia* 40:359-366, 2013.
  54. Murphy PJ, Erskine R, Langton JA. The effect of intravenously administered diazepam, midazolam and flumazenil on the sensitivity of upper airway reflexes. *Anaesthesia* Feb;49(2):105-10. doi: 10.1111/j.1365-2044. tb03363.x. PMID: 8129118, 1994.
  55. Aguilera R, Sinclair M, Valverde A, *et al.* Dose and cardiopulmonary effects of propofol alone or with midazolam for induction of anesthesia in critically ill dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* Jul;47(4):472-480. doi: 10.1016/j.vaa.2020.03.006. Epub 2020 Apr 11. PMID: 32402602, 2020.
  56. Covey-Crump GL, Murison PJ. Fentanyl or midazolam for co-induction of anaesthesia with propofol in dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 2008 Nov;35(6):463-72. doi: 10.1111/j.1467-2995.2008.00408.x. Epub 2008 Jun 19. Erratum in: *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 2013 Mar;40(2):156. Dosage error in article text. PMID: 18565204.
  57. Minghella E, Auckburally A, Pawson P, *et al.* Clinical effects of midazolam or lidocaine co-induction with a propofol target-controlled infusion (TCI) in dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*

- Sep;43(5):472-81,2016. doi: 10.1111/vaa.12336. Epub 2016 Feb 2. PMID: 26833994.
58. Liao P, Sinclair M, Valverde A, *et al*. Induction dose and recovery quality of propofol and alfaxalone with or without midazolam coinduction followed by total intravenous anesthesia in dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* Sep;44(5):1016-1026, 2017. doi: 10.1016/j.vaa.2017.02.011. Epub 2017 Apr 29. PMID: 28967477.
59. Muñoz KA, Robertson SA, Wilson DV. Alfaxalone alone or combined with midazolam or ketamine in dogs: intubation dose and select physiologic effects. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* Jul;44(4):766-774, 2017. doi: 10.1016/j.vaa.2017.01.004. Epub 2017 Mar 6. PMID: 28756063.
60. Zapata A, Laredo FG, Escobar M, *et al*. Effects of midazolam before or after alfaxalone for co-induction of anaesthesia in healthy dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* Sep;45(5):609-617, 2018. doi: 10.1016/j.vaa.2018.04.002. Epub 2018 Jun 19. PMID: 30077556.
61. Italiano M, Robinson R. Effect of benzodiazepines on the dose of alfaxalone needed for endotracheal intubation in healthy dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* Nov;45(6):720-728, 2018. doi: 10.1016/j.vaa.2018.06.011. Epub 2018 Jul 29. PMID: 30301663.
62. Miller C, Hughes E, Gurney M. Co-induction of anaesthesia with alfaxalone and midazolam in dogs: a randomized, blinded clinical trial. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* Sep;46(5):613-619, 2019. doi: 10.1016/j.vaa.2019.03.009. Epub 2019 Jun 8. PMID: 31285156.
63. Keating SC, Sage AM, Ambrisko TD, *et al*. The effect of midazolam or lidocaine administration prior to etomidate induction of anesthesia on heart rate, arterial pressure, intraocular pressure and serum cortisol concentration in healthy dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* Mar;47(2):160-167, 2020. doi: 10.1016/j.vaa.2019.09.004. Epub 2019 Oct 28. PMID: 31813669.
64. Jones TL, Calbay R, da Cunha AF, *et al*. Descriptive assessment of adverse events associated with midazolam-etomidate versus saline-etomidate in healthy hydromorphone premedicated dogs. *Journal of Small Animal Practice* Jun;62(6):437-441, 2021. doi: 10.1111/js-ap.13304. Epub 2021 Feb 10. PMID: 33565094.
65. Stegmann GF, Bester L. Some clinical effects of midazolam premedication in propofol-induced and isoflurane-maintained anaesthesia in dogs during ovariectomy. *Journal of the South African Veterinary Association* Dec; 72(4):214-6, 2001. doi: 10.4102/jsava.v72i4.655. PMID: 12219917.
66. Sams L, Braun C, Allman D, *et al*. A comparison of the effects of propofol and etomidate on the induction of anesthesia and on cardiopulmonary parameters in dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* Nov;35(6):488-94, 2008. doi: 10.1111/j.1467-2995.2008.00417.x. Epub 2008 Aug 15. PMID: 18713224.
67. Short TG, Chui PT. Propofol and midazolam act synergistically in combination. *British Journal of Anaesthesia* Nov;67(5):539-45, 1991. doi: 10.1093/bja/67.5.539. PMID: 1751266.
68. McClune S, McKay AC, Wright PM, *et al*. Synergistic interaction between midazolam and propofol. *British Journal of Anaesthesia* Sep;69(3):240-5, 1992. doi: 10.1093/bja/69.3.240. PMID: 1389840.
69. Seo JI, Han SH, Choi R, *et al*. Cardiopulmonary and anesthetic effects of the combination of butorphanol, midazolam and alfaxalone in Beagle dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* May;42(3):304-8, 2015. doi: 10.1111/vaa.12223. Epub 2014 Aug 12.
70. Bond AJ. Drug-induced behavioral disinhibition. Incidence, mechanisms and therapeutic implications. *CNS Drugs* 9, 41-57, 1998.
71. Golparvar M, Saghaei M, Sajedi P, *et al*. Paradoxical reaction following intravenous midazolam premedication in pediatric patients - a randomized placebo controlled trial of ketamine for rapid tranquilization. *Pediatric Anesthesia*, Nov;14(11):924-30, 2004. doi: 10.1111/j.1460-9592.2004.01349.x. PMID: 15500492.
72. Paton C. Benzodiazepines and disinhibition: a review. *Psychological Bulletin* 26(12): 460-462.
73. Di Liberti J, O'Brien ML, Turner T. The use of physostigmine as an antidote in accidental diazepam intoxication. *The Journal of Pediatrics* Jan;86(1):106-7, 1975. doi: 10.1016/s0022-3476(75)80717-7. PMID: 1110430.
74. Le Chevallier D, Slingsby L, Murrell J. Use of midazolam in combination with medetomidine for premedication in healthy dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* Jan;46(1):74-78, 2019. doi: 10.1016/j.vaa.2018.08.001. Epub 2018 Aug 30. PMID: 30528670.
75. Canfrán S, Bustamante R, González P, *et al*. Comparison of sedation scores and propofol induction doses in dogs after intramuscular administration of dexmedetomidine alone or in combination with methadone, midazolam, or methadone plus midazolam. *Veterinary Journal*, Apr;210:56-60, 2016. doi: 10.1016/j.tvjl.2016.01.015. Epub 2016 Feb 1. PMID: 26916607.
76. Hofmeister EH, Williams CO, Braun C, *et al*. Influence of lidocaine and diazepam on peri-induction intraocular pressures in dogs anesthetized with propofol-atracurium. *Canadian Journal of Veterinary Research* Oct;70(4):251-6. PMID: 17042376; PMCID: PMC1562534, 2006.
77. Seddighi R, Egger CM, Rohrbach BW, *et al*. The effect of midazolam on the end-tidal concentration of isoflurane necessary to prevent movement in dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* May;38(3):195-202, 2011. doi: 10.1111/j.1467-2995.2011.00615.x. PMID: 21492384.
78. Bustamante R, Gómez de Segura IA, Canfrán S, *et al*. Effects of ketamine or midazolam continuous rate infusions on alfaxalone total intravenous anaesthesia requirements and recovery quality in healthy dogs: a randomized clinical trial. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* Jul;47(4):437-446, 2020. doi: 10.1016/j.vaa.2019.10.010. Epub 2020 Mar 24. PMID: 32340894.
79. Hall RI, Schwieger IM, Hug CC Jr. The anesthetic efficacy of midazolam in the enflurane-anesthetized dog. *Anesthesiology*. Jun;68(6):862-6. doi: 10.1097/0000542-198806000-00005. PMID: 3377232, 1988.
80. Hall RI, Schwieger IM, Hug CC Jr. The anesthetic efficacy of midazolam in the enflurane-anesthetized dog. *Anesthesiology* Jun;68(6):862-6. doi: 10.1097/0000542-198806000-00005. PMID: 3377232, 1988.
81. Brogden RN, Goa KL. Flumazenil. A reappraisal of its pharmacological properties and therapeutic efficacy as a benzodiazepine antagonist. *Drugs*. Dec;42(6):1061-89, 1991. doi: 10.2165/00003495-199142060-00010. Erratum in: *Drugs* 1992 Apr;43(4):442. PMID: 1724638.
82. Messick JM Jr, Newberg LA, Nugent M, Faust RJ. Principles of neuroanesthesia for the nonneurosurgical patient with CNS pathophysiology. *Anesthesia & Analgesia*. 1985 Feb;64(2):143-74. PMID: 3882022.
83. Cotev S, Shalit MN. Effects on diazepam on cerebral blood flow and oxygen uptake after head injury. *Anesthesiology*. 1975 Jul;43(1):117-22. doi: 10.1097/0000542-197507000-00029. PMID: 1147299.
84. Maekawa T, Sakabe T, Takeshita H. Diazepam blocks cerebral metabolic and circulatory responses to local anesthetic-induced seizures. *Anesthesiology*. Oct;41(4):389-91, 1974. doi: 10.1097/0000542-197410000-00015. PMID: 4412802.
85. Artru AA. Intraocular pressure in anesthetized dogs given flumazenil with and without prior administration of midazolam. *Canadian Journal of Anesthesia* Apr;38(3):408-14. doi: 10.1007/BF03007632. PMID: 2036701, 1991.
86. Pino Capote JA. Decrease in intraocular pressure produced by I.V. or conjunctival diazepam. *British Journal of Anaesthesia* Aug;50(8):865. doi: 10.1093/bja/50.8.865. PMID: 678378, 1978.
87. Murphy DF. Anesthesia and intraocular pressure. *Anesthesia & Analgesia* May;64(5):520-30. PMID: 3158256, 1985.
88. Bozkurt P, Kaya G, Süzer O, *et al*. Diazepam serum concentration-sedative effect relationship in patients with liver disease. *Middle East Journal of Anesthesiology* Feb;13(4):405-13. PMID: 8713635, 1996.