

00524
16



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

“EVALUACION DE LA CURVA DOSIS RESPUESTA
CUANTAL DEL EFECTO ANESTESICO DEL
PENTOBARBITAL SODICO EN CUATRO GENERICOS
ADMINISTRADOS POR VIA INTRAPERITONEAL A
DOS HORAS PREDETERMINADAS EN LA ESPECIE
Mus musculus”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :
TANIA BIRRUETA ROQUE



MEXICO, D.F.



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

2003

A



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

PAGINACION DISCONTINUA

JURADO ASIGNADO:

PROFESORES

Presidente	Prof. Ana Maria Vázquez Álvarez
Vocal	Prof. Atonatiu Edmundo Gómez Martínez
Secretario	Prof. José Jesús Alvarado Pérez
1er suplente	Prof. Héctor Antonio Ponce Monter
2do suplente	Prof. Raúl Lugo Villegas

Sitio en donde se desarrolló el tema:

Este trabajo se realizó en el Bioterio 4º Piso Edificio "A" y en la sección de Farmacología, Laboratorio 1-E de la Facultad de Química. UNAM.

Asesor del Tema



M.V.Z. Atonatiu Edmundo Gómez Martínez

Supervisor Técnico



Q.F.B. Ruth Bustamante García

Sustentante



Tania Birrueta Roque

B

Si por un instante Dios se olvidara de que soy una marioneta de trapo y me regalara un trozo de vida, posiblemente no diría todo que pienso, pero en definitiva pensaría todo lo que digo.

Daría valor a las cosas, no por lo que valen, sino por lo que significan. Dormiría poco, soñaría más, entiendo que por cada minuto que cerramos los ojos, perdemos sesenta segundos de luz. Andaría cuando los demás se detienen, despertaría cuando los demás duermen. Escucharía cuando los demás hablan y cómo disfrutaría de un buen helado de chocolate.

Si Dios me obsequiara un trozo de vida, vestiría sencillo, me tinaría de bruceas al sol, dejando descubierta, no solamente mi cuerpo, sino mi alma.

Dios mío si yo tuviera un corazón, escribiría mi odio sobre el hielo, y esperaría a que saliera el sol. Pintaría con un sueño de Van Gogh sobre las estrellas, un poema de Benedetti, y una canción de Serrat sería la serenata que les ofrecería a la luna. Regaría con mis lágrimas las rosas, para sentir el dolor de sus espinas, y el encarnado beso de sus pétalos...

Dios mío, si yo tuviera un trozo de vida... No dejaría pasar un sólo día sin decirle a la gente que quiero, que la quiero. Convencería a cada mujer u hombre que son mis favoritos y viviría enamorado del amor.

A los hombres les probaría cuán equivocados están al pensar que dejan de enamorarse cuando envejecen, sin saber que envejecen cuando dejan de enamorarse. A un niño le daría alas, pero le dejaría que él solo aprendiese a volar. A los viejos les enseñaría que la muerte no llega con la vejez, sino con el olvido.

Tantas cosas he aprendido de ustedes los hombres:

He aprendido que todo el mundo quiere vivir en la cima de la montaña, sin saber que la verdadera felicidad está en la forma de subir la escarpada.

He aprendido que cuando un recién nacido aprieta con su pequeño puño, por primera vez, el dedo de su padre, lo tiene atrapado por siempre.

He aprendido que un hombre sólo tiene derecho a mirar a otro hacia abajo, cuando ha de ayudarlo levantarse.

Son tantas cosas las que he podido aprender de ustedes, pero realmente de mucho no habrán de servir, porque cuando me guarden dentro de esa maleta, infelizmente me estaré muriendo.

Siempre di lo que siento y haz lo que piensas.

Si supiera que hoy fuera la última vez que te voy a ver dormir, te abrazaría fuertemente y rezaría al Señor para poder ser el guardián de tu alma.

Si supiera que esta fuera la última vez que te vea salir por la puerta, te daría un abrazo, un beso y te llamaría de nuevo para darte más.

Si supiera que esta fuera la última vez que voy a oír tu voz, grabaría cada una de tus palabras para poder oírlas una y otra vez indefinidamente.

Si supiera que estos son los últimos minutos que te veo diría "te quiero" y no asumiría, tontamente, que ya lo sabes.

Siempre hoy un mañana y la vida nos da otra oportunidad para hacer las cosas bien, pero por si me equivoco y hoy es todo lo que nos queda, me gustaría decirte cuanto te quiero, que nunca te olvidará.

El mañana no le está asegurado a nadie, joven o viejo. Hoy puede ser la última vez que veas a los que amas. Por eso no esperes más, hazlo hoy, ya que si el mañana nunca llega, seguramente lamentarás el día que no tomaste tiempo para una sonrisa, un abrazo, un beso y que estuviste muy ocupado para concederles un último deseo.

Mantén a los que amas cerca de ti, díles al oído lo mucho que los necesitas, quírelos y trátalos bien, toma tiempo para decirles "lo siento", "pensé en ti", "por favor", "gracias" y todas las palabras de amor que conoces.

Nadie te recordará por tus pensamientos secretos. Píde al Señor la fuerza y sabiduría para expresarlos. Demuestra a tus amigos cuanto te importan.

Gabriel García Márquez

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

C

DEDICATORIAS

Gracias a Dios por estar siempre conmigo en cada instante y por permitirme experimentar las cosas más grandes de la vida. Concédeme la serenidad de aceptar las cosas que no puedo cambiar, el entusiasmo para cambiar las cosas que sí puedo, y la sabiduría para comprender la diferencia.

A mis Padres por que gracias a ellos existo y por guiarme en la vida y enseñarme las cosas que realmente valen la pena.

Antonio Birrueta por ser mi ejemplo de vida y por que gracias a todos tus esfuerzos y sacrificios soy la mujer que soy, sabes que te amo y que no existe persona a la que admire más que a ti. Te amo.

María Roque por ser mi guardián de vida siempre estas conmigo y me quieres como tu niñita. Gracias por darme refugio en tus brazos y así hacerme sentir protegida de todas las adversidades. Te amo con todo mi corazón Mamita.

A mis Hermanos porque siempre hemos estado juntos a pesar de que llevamos caminos distintos, pero aun así sabemos que estamos protegidos de todo. Son parte fundamental de mi árbol de la vida.

Antonio tú eres mi ángel de la guarda, porque aunque no expresemos muy seguido nuestros sentimientos, sé que me quieres y me apoyarás en todo lo que haga en mi vida.

Lily porque eres mi mejor amiga, mi confidente, mi guía espiritual, pero sobre todas las cosas me amas tal como soy. Gracias por compartir tu vida conmigo con alegría y entusiasmo.

Omar tú eres mi ejemplo de superación y mi mejor amigo, porque a pesar de las adversidades sabes como salir de ellas, admiro tu valor en todo lo que haces.

Gustavito porque tu nos enseñaste a ser responsables teniéndote y gracias a ti me sorprende cada día mas de las cosas simples de la vida.

Tío Pedro Birrueta porque eres un hombre al cual admiro y quiero profundamente y que siempre has estado ahí para escucharme y hacerme sentir bien, gracias por tu amistad y cariño.

A toda mi Familia porque gracias a su cariño y apoyo he llegado a realizar uno de los anhelos más grandes de mi vida.

A todos ustedes sabiendo que jamás existirá una forma de agradecer una vida de lucha, sacrificio y esfuerzo constantes, sólo deseo que comprendan que el logro mio es suyo, que mi esfuerzo es inspirado en ustedes y que son mi único ideal.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

D

AGRADECIMIENTOS

Gracias a la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme desarrollarme en todos los aspectos y así formar parte de su gran Historia, gracias a la Facultad de Química por que gran parte de mis momentos más especiales los viví aquí. Agradezco profundamente a todos y cada uno de los profesores que me ayudaron en mi formación académica. Orgullosamente soy Universitaria.

Al M.V.Z. Atonatiu E. Gómez Martínez por ser una excelente persona y un gran amigo, sin sus consejos y atinadas recomendaciones no se habría podido desarrollar este trabajo. Pero sobre todo le agradezco por ser mi amigo, escucharme y soportarme cuando la desesperación me atacaba y enseñarme que las cosas que realmente valen la pena no son tan complicadas, lo llevare siempre en mi corazón.

A Q.F.B. Ruth Bustamante porque sin tu experiencia y consejos no sabría que hacer, eres una gran amiga y sobre todo una excelente Química. Gracias por brindarme tu amistad.

Al Dr. Benjamín León de la Facultad de Medicina por todo el apoyo que me brindó, por compartir conmigo su experiencia sin ni siquiera conocerme, por contribuir de manera importante en el desarrollo de este trabajo.

A la Dra. Elia Brosla Naranjo por su paciencia y sabios consejos, por su disposición a compartir conmigo todos sus conocimientos, por la confianza que ha depositado en mí y que espero nunca defraude.

Gracias a los sinodales por su cooperación y sugerencias en la revisión de este trabajo

E

AGRADECIMIENTOS

A todos y cada una de las personas que he conocido en mi vida, por el simple hecho de haberse cruzado en mi camino y que dejan una honda huella en mí. A todos los que hicieron posible este sueño hecho realidad.

A Aidel, Mariana, y Manuel porque a pesar de todos los años que han pasado sé que nuestra amistad es sólida. Gracias por compartir conmigo siempre los buenos y malos momentos demostrándome día a día que el no vernos no significa que nos hemos olvidado. Saben que los amo y significan mucho para mí.

A Laura Ortiz, Marisela, Paco, Erick, Laura García, Carlos Niño, Ricardo Mungía y Rubisel, porque junto con todos los del grupo 468, crecimos, nos divertimos y aprendimos, pero sobre todo logramos compartir sueños, que hemos visto cristalizados, son una parte fundamental en mi vida. GRACIAS CINICOS.

Laura Ortiz mil gracias por ser como eres y por permitirme compartir contigo muchas aventuras, gracias por tu amistad y por dejarme entrar a tu familia a la que adoro. T.Q.M.

Marisela gracias por ser siempre mi apoyo y porque de vez en cuando me regresas al camino del bien, eres una mujer admirable al igual que tu mami.

Paquito, mi mejor amigo, gracias por aceptarme tal cual soy y escucharme siempre, en todos los momentos difíciles siempre estas conmigo y eso te lo agradezco infinitamente, te amo.

A todos mis amigos de la Facultad de Química por la fortuna de conocerlos y por aceptarme dentro de sus vidas, Guadalupe, Italia, Fanny, Nadia, Andrea, Tania (tocaya), Kristel, Miriam, Charly, Abel, Toño, Emilio..., porque ustedes hicieron de esta época de mi vida lo más maravilloso que me llevo de la facultad. Gracias a todos por siempre estar conmigo y echarme porras y ánimos en todo momento.

Karyn dicen que un amigo es uno que lo sabe todo de ti y a pesar de ello te quiere. tú si eres mi ángel. Te quiero mucho amiga.

Violetilla gracias por estar en los buenos y malos momentos, eres una extraordinaria persona, gracias por tu amistad.

Raquel, Héctor y Xylalfy solo quiero decirles que gracias por aceptarme tal cual soy, y sé que aunque ya no nos vemos tanto, siempre es una dicha saber que cuento con amigos como ustedes, gracias por las sesiones de café terapéutico, las bohemias, por compartir las decepciones y las alegrías. Saben que los amo y que siempre le doy gracias a Dios por ponerlos en mi camino.

Raquel te admiro por ser una mujer que logra sus metas y propósitos, gracias por la confianza y amistad que me has brindado.

Héctor gracias a ti comencé a creer en mis capacidades y virtudes, gracias por tus atinadas recomendaciones.

Xylalfy eres una mujer admirable por tu manera de ser y por tus consejos, gracias por considerarme dentro de tus amigos y por echarme porras cuando me sentía mal.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

F

ÍNDICE

CONTENIDO	PÁG.
Capítulo I	
INTRODUCCIÓN	1
Capítulo II	
ANTECEDENTES	3
2.1 Anestesia	3
2.1.1 Historia	3
2.1.2 Definición	3
2.1.3 Tipos de anestesia	4
2.1.3.1 Anestesia General	5
2.1.4 Cuidados pre-operatorios	6
2.1.5 Medicación pre-anestésica	8
2.2 Ratón	10
2.2.1 Características Biológicas y Fisiológicas	10
2.2.2 Anestesia en el ratón	11
2.3 Barbitúricos	12
2.3.1 Pentobarbital sódico	14
2.4 Curva Dosis Respuesta Cuantitativa	17
2.5 Relojes Biológicos	21
Capítulo III	
OBJETIVOS	22
3.1 Objetivo Particular	22
3.2 Objetivos Generales	22
Capítulo IV	
HIPÓTESIS	23
Capítulo V	
MATERIAL Y MÉTODO	24
Capítulo VI	
RESULTADOS	28
Capítulo VII	
ANÁLISIS DE RESULTADOS	35
Capítulo VIII	
CONCLUSIONES	38
ANEXOS	39
ANEXO 1: Cronología de la Anestesia	39
ANEXO 2: Medicación pre-anestésica en el ratón	41
ANEXO 3: Tabla de conversión de porcentajes en unidades de probabilidad	42
BIBLIOGRAFÍA	43

ABREVIATURAS

BART:	Barbitúricos
CDRC:	Curva Dosis Respuesta Cuantal.
CFW	Cepa no consanguínea
DE₅₀:	Dosis Efectiva 50
DT₅₀:	Dosis Tóxica 50
DL₅₀:	Dosis Letal 50
DE₉₉:	Dosis Efectiva 99
DL₁:	Dosis Letal 1
GABA:	Ácido γ - amino butírico
i/m:	Vía intramuscular
i/p ó IP :	Vía intraperitoneal
IT:	Índice Terapéutico
L/Kg:	Litros por Kilogramo.
MS:	Margen de Seguridad
mg/Kg:	Miligramos por kilogramo de peso corporal
mL/Kg:	Mililitros de solución comercial o solución premezclada diluida por Kg de peso vivo.
Probit ó U.P.:	Unidades de Probabilidad
PS:	Pentobarbital sódico
Puls/min:	Pulsaciones por minuto
Resp/min:	Respiraciones por minuto
s/c:	Vía subcutánea
SNC	Sistema Nervioso Central
SPF:	Animales libres de patógenos específicos

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La investigación biomédica se acompaña de una amplia gama de actividades científicas, con el objetivo general de mejorar y acrecentar nuestros conocimientos sobre el binomio salud – enfermedad del hombre y de los animales (Cruz J., 1994).

El empleo de las especies de laboratorio con fines científicos requiere, la mayoría de las ocasiones, un efectivo y seguro manejo anestésico.

La mejora de las técnicas anestésicas debe considerarse un aspecto esencial del refinamiento de los métodos experimentales (Cruz J., 1994).

Es importante tener en cuenta que una incorrecta técnica anestésica puede ocasionar efectos adversos sobre la calidad de los resultados obtenidos en el transcurso de la experimentación animal. Por lo tanto es responsabilidad de todos los investigadores relacionados con el uso del animal de laboratorio, el revisar sus métodos anestésicos, para introducir cuantas mejoras sean necesarias.

Con el tiempo se ha observado que por usos y costumbres, en general, los animales de laboratorio en México son anestesiados con barbitúricos (propiamente Pentobarbital sódico), los cuales presentan diferentes efectos que los laboratorios fabricantes de los productos farmacéuticos que contienen como principio activo a los barbitúricos no determinan en su marbete, ya que solo se presentan indicaciones de dosis para animales mucho mayores, por lo cual es necesario hacer la evaluación de estos fármacos en animales de laboratorio indicando los siguientes parámetros:

- ◆ Dosis Efectiva (DE_{50})
- ◆ Dosis Letal (DL_{50})
- ◆ Dosis Tóxica (DT_{50})
- ◆ Margen de Seguridad
- ◆ Índice Terapéutico

Así mismo es necesario contemplar otros factores que puedan afectar nuestro estudio, entre estos factores tenemos el ritmo circadiano ya que la luz produce una estimulación cíclica la cual puede repercutir en la secreción y función de los neurotransmisores, que son los mensajeros de la información entre neuronas. Estos cambios cíclicos inducen cambios, no sólo en los seres vivos sino también sobre la cinética y dinámica de los

medicamentos observándose diferencias en los seres vivos aun cuando se administra un mismo medicamento. Por lo tanto es de vital importancia caracterizar el efecto de un fármaco a diferentes horas del día.

Con la evaluación de estos parámetros en diferentes genéricos comercializados en México y a diferentes horas del día podemos caracterizar el efecto anestésico del pentobarbital sódico en la especie *Mus musculus* para disminuir los efectos adversos de muerte o falta de efecto terapéutico al administrar este fármaco, así como también describir que de genérico a genérico a pesar de tener el mismo principio activo no siempre se obtiene el efecto farmacológico deseado aunque se administren dosis similares.

Es importante resaltar que en México aún se siguen utilizando fármacos que presentan efectos adversos y que no se han retirado del mercado ya que no se realizan los estudios pertinentes como es Bioequivalencia y farmacovigilancia.

En el caso de animales de laboratorio no se ha tenido la precaución de realizar los estudios pertinentes para poder determinar la efectividad y seguridad de un fármaco, ya que a veces se siguen utilizando como pruebas de ensayo y error, repercutiendo en altos costos principalmente en investigación.

En este estudio se utilizó al ratón por ser un animal de laboratorio con características semejantes anatómica, fisiológica y metabólicamente al humano, además de ser el animal más utilizado en Investigación Biomédica (Gómez A., 2001).

CAPÍTULO II

ANTECEDENTES

2.1 ANESTESIA

2.1.1 HISTORIA

Las prácticas anestésicas proceden de tiempos remotos, pero la evolución de la especialidad se inició sólo a mediados del siglo XIX, y no se estableció con firmeza sino hasta hace apenas 50 años (Morgan E., 1995).

Durante siglos e incluso milenios la evolución de los procedimientos de anulación del dolor giró alrededor de métodos rudimentarios y preparación de plantas (Gonzalo M., 1994)

A principios del siglo XIX existía un ambiente propicio para el desarrollo de la anestesia. En 1846 William Morton, odontólogo de Boston estaba familiarizado con el uso del óxido nitroso (NO), por su asociación previa con Horace Wells. Morton se percató de los efectos anestésicos del éter, consideró que era más promisorio, y practico con él en animales y a continuación en sí mismo. Por último solicitó permiso para demostrar en público la utilización de este fármaco como anestésico quirúrgico, la cual fue un éxito. Morton recibe el crédito por la creación de la anestesia quirúrgica. Se puede considerar que William Morton, Horace Wells y Charles Thomas Jackson fueron los tres motores que impulsaron el descubrimiento de la anestesia. (Goodman y Gilman, 1996).

Así se describen en la historia algunos sucesos (Ver Anexo I "Cronología de la anestesia").

2.1.2 DEFINICIÓN DE ANESTESIA

Etimológicamente proviene del griego αναίσθησια: αν, privación., y αίσθησις, sentido, sentimiento; privación de la sensibilidad.

La anestesia es un conjunto de procedimientos y medios de los que nos servimos para eliminar el dolor en las intervenciones quirúrgicas, en algunas maniobras diagnósticas o en diversas acciones terapéuticas e incluso, excepcionalmente eutanasias (Orden M., 1994).

Algunos factores afectan la respuesta de los roedores a los anestésicos, y una dosificación puede matar a un animal y a otro afectar escasamente. La variación interespecies e intraespecies en respuesta a estos fármacos puede ser grande. Los factores específicos que influyen en la respuesta son sexo, edad, raza, peso, porciento de grasa corporal, salud y estado nutritivo, el volumen de ingesta, tiempo del día, historial genético, y las proporciones respiratorias y metabólicas (Hábitat). (Harkness J., 1995).

2.1.3 TIPOS DE ANESTESIA

Podemos agrupar los diferentes tipos de anestesia en dos grandes grupos. El primero incluye la anestesia loco-regional, en la que el animal permanecerá despierto y con sólo parte de su cuerpo protegido contra el dolor, y el segundo, la anestesia general, en la que el animal tendrá una pérdida general de la conciencia (Gonzalo M., 1994).

- *Anestesia loco-regional.*
 - Aplicación tópica
 - Infiltración
 - Bloqueos nerviosos (bloqueo espinal).
- *Anestesia general.*
 - Por agentes fijos (Anestesia Intravenosa)
 - Disociativa
 - Por agentes volátiles (Anestesia Inhalatoria)

Según la vía:

- ▲ Inhalatoria
- ▲ Subcutánea
- ▲ Intramuscular
- ▲ Intravenosa
- ▲ Intrapertoneal
- ▲ Oral
- ▲ Rectal

Para efecto de nuestro trabajo experimental sólo describiremos la anestesia general parenteral que fue la que se realizó dentro de este trabajo.

2.1.3.1 ANESTESIA GENERAL

La anestesia general puede inducirse utilizando una gran variedad de fármacos y técnicas. A menudo, puede administrarse un sólo fármaco que satisfaga todos los requerimientos de la anestesia general: *analgesia, amnesia, pérdida de la conciencia, inhibición de reflejos sensitivos y autónomos* y, en muchos casos, *relajación de músculos esqueléticos*. El grado al que cualquier anestésico inhibidor puede ejercer estos efectos varía según la sustancia, la dosis y las circunstancias clínicas (Katzung G., 2002).

ETAPAS DE LA ANESTESIA

Los cambios progresivos resultantes de la administración de fármacos anestésicos se clasifican en cuatro etapas (William L., 1981):

ETAPA I: Esta determina el estado de analgesia o movimiento voluntario y su duración es desde la administración inicial hasta la pérdida de la conciencia. A pesar de que se llega al término del estado de analgesia, la sensación dolorosa persiste y algunos estados de analgesia se pueden presentar en fases más profundas de este estadio. Es la etapa más variable. Al acercarse a la etapa II, el animal pierde el control para mantenerse de pie y asume la posición decúbito lateral (William L., 1981).

ETAPA II: Esta etapa se ha denominado etapa de delirio o de movimiento involuntario. A medida que los centros corticales se deprimen, el paciente pierde la conciencia. Este estado dura desde la pérdida de la conciencia hasta el establecimiento de un patrón regular de respiración. Como resultado de la depresión anestésica de los centros altos, los reflejos se toman más primitivos y exagerados (William L., 1981).

ETAPA III: Este es el estado de anestesia quirúrgica y está caracterizado por la inconciencia con pérdida progresiva de los reflejos. La relajación muscular se produce y la respiración se toma lenta y regular. Los reflejos deglutorio y emético se pierden (William L., 1981).

ETAPA IV: En esta etapa el sistema nervioso está en extremo deprimido y la respiración cesa. El corazón continúa latiendo sólo por un corto periodo. Las mucosas están pálidas y las pupilas muy dilatadas. Los esfínteres urinario y anal se relajan. La muerte ocurre rápidamente a menos que se actúe de inmediato con resucitadores (William L., 1981).

Con los anestésicos intravenosos o con los sedantes pre-anestésicos, el tiempo entre las etapas es corto, y muchos signos poco aparentes son a menudo inadvertidos (Katzung B., 2002).

Para proporcionar la anestesia del nivel requerido para nuestro trabajo experimental (que en nuestro caso necesitamos llegar a la hipnosis), es esencial realizar procedimientos pre-operatorios adecuados antes de intentar anestesiarse a un animal (Flecknell P., 1998).

2.1.4 CUIDADOS PRE- OPERATORIOS

Para reducir la incidencia de numerosas complicaciones que se pueden presentar durante el manejo anestésico, es indispensable realizar procedimientos pre-operatorios, asegurándonos de que los animales que se van a anestesiarse se encuentren en perfectas condiciones sanitarias y libres de procesos subclínicos (Cruz J., 1994).

Es importante considerar la preparación, no sólo de los animales a anestesiarse, sino también del equipo, los fármacos y el personal que estará implicado en el procedimiento (Flecknell P., 1998).

A. Equipo anestésico, fármacos anestésicos y personal

Una vez determinado un protocolo anestésico es importante comprobar:

- Que se dispone del equipo preciso y que éste funciona correctamente.
- Contamos con suficiente cantidad de fármacos y gases anestésicos no sólo para el tiempo de anestesia previsto, sino para atender los posibles imprevistos.
- Deben revisarse las fechas de caducidad de todos los fármacos, así como si se han conservado correctamente.
- Debe contarse (además de los agentes anestésicos) con los fármacos necesarios para hacer frente a emergencias.
- El equipo de monitorización debe encenderse, permitir que se estabilice, si es necesario, y comprobar sus funciones.
- Debe verificarse la disponibilidad de un espacio adecuado para la recuperación post-operatoria.
- Debe probarse que todo el personal involucrado ha sido debidamente informado sobre el método experimental y que está familiarizado con el equipo y las técnicas que se van a usar.

Al utilizar en este trabajo experimental, una cantidad considerable de animales de laboratorio (ratones), es importante destacar los cuidados que debemos tener en el animal para evitar posibles errores en el trabajo experimental.

EL ANIMAL

El factor individual más importante que puede reducir los riesgos asociados con la anestesia es el uso de animales sanos.

Las especies de laboratorio son susceptibles de padecer una gran cantidad de enfermedades, cuando sea posible deben obtenerse animales de un nivel de salud definido como SPF (Libres de patógenos específicos), gnotobióticos, etc.; y por ello se impone una valoración clínica previa a la administración de fármacos anestésicos (Cruz J., 1994).

A. Aclimatación

Los animales deben obtenerse al menos una semana y, de preferencia, 14 días antes de su uso, para dejar un período de tiempo apropiado para la aclimatación al nuevo ambiente.

Durante este período, desaparecerán los cambios metabólicos y hormonales producidos por el estrés del transporte, pudiéndose evidenciar en el animal cualquier signo de salud o enfermedad. El personal encargado del cuidado de los animales tendrá la oportunidad de familiarizarse con el comportamiento y las peculiaridades del grupo de animales, y se podrá comenzar a registrar el peso vivo, la velocidad de crecimiento y los consumos de agua y comida (Flecknell P., 1998).

B. Exploración clínica

Esta valoración previa debe ser llevada a cabo por personal familiarizado con la especie animal en cuestión, para determinar cambios en el patrón respiratorio o cambios de color de las membranas mucosas. La presencia de secreciones nasales, oculares o alrededor de la zona perineal pueden ser indicativas de algún proceso patológico. Es de gran ayuda el control del consumo de agua y alimento unos días antes a la realización del experimento. Ello facilitará también la valoración del estado general en el periodo post-operatorio (Flecknell P., 1998).

C. Ayuno pre-operatorio

Aunque en algunas especies se recomienda el ayuno como parte del protocolo preoperatorio, éste no es necesario en conejos y pequeños roedores como el ratón puesto que el riesgo de vómito durante la inducción anestésica no existe en estas especies.

A todos los animales se les debe proporcionar agua de bebida hasta aproximadamente 60 minutos antes de la inducción de la anestesia. También, los animales deben pesarse antes de la anestesia, para permitir, tanto una precisa dosificación de los fármacos como la valoración de una posible pérdida de peso después de la operación. (Flecknell P., 1998).

2.1.5 MEDICACIÓN PRE – ANESTÉSICA

Los objetivos de la administración de medicación pre- anestésica son:

- Reducir el recelo y el miedo, proporcionar sedación y ayudar a una inducción anestésica sin estrés.
- Reducir la cantidad de otros agentes anestésicos requeridos para inducir anestesia general, con lo que se reducen los efectos secundarios no deseables de estos agentes.
- Proporcionar una inducción anestésica más suave.
- Proporcionar una recuperación más suave de la anestesia
- Reducir el volumen de las secreciones salivar y bronquial, que podrían bloquear las vías aéreas.
- Bloquear el reflejo vaso-vagal (el reflejo que disminuye la frecuencia cardiaca).
- Reducir el dolor antes e inmediatamente después de la operación.

Aunque los objetivos enumerados anteriormente son aplicables a todas las especies animales, la medicación pre-anestésica se utiliza a menudo en grandes animales, donde la sedación y la tranquilización son necesarias para ayudar a la contención y minimizar el riesgo de que sufran daños tanto el animal como la persona que lo manipula. (Flecknell P, 1998).

Junto con el uso de fármacos, la manipulación experta y cuidadosa de los animales de laboratorio es parte esencial de un manejo pre-anestésico humanitario.

La selección de un protocolo de fármacos pre-anestésicos dependerá de la especie animal que se va a anestesiarse, los agentes anestésicos a utilizar, los requerimientos particulares del experimento y las preferencias personales del anestesiador. A continuación

se describen las características de los principales grupos de fármacos disponibles (Ver Tabla 2.1.5.1).

Tabla 2.1.5.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS PRINCIPALES GRUPOS DE FÁRMACOS DISPONIBLES PARA MEDICACIÓN PRE-ANESTÉSICA

<p>ANTICOLINERGICOS</p> <p>ATROPINA GLICOPIRROLATO</p>	<p><i>Deseable:</i> Incluyen la reducción de las secreciones salivar y bronquial que pueden ocluir parcialmente las vías aéreas, la atropina protege al corazón de la inhibición vagal. También puede usarse para corregir una bradicardia causada por opioides como el fentanilo.</p> <p><i>Indeseable:</i> Incluyen el aumento de la frecuencia cardiaca por lo que no se recomienda su uso si la frecuencia cardiaca está ya elevada, o si es probable que se produzca taquicardia.</p>
<p>TRANQUILIZANTES Y SEDANTES</p> <ul style="list-style-type: none"> • FENOTIACINAS: CLORPROMACINA, ACEPROMACINA, PROMACINA • BUTIROFENONAS: DROPERIDOL FLUANISONA, AZAPERONA • BENZODIACEPINAS: DIACEPAM, MIDAZOLAM 	<p><i>Deseable:</i> Estos fármacos producen sedación y potencian la acción de los anestésicos hipnóticos y analgésicos narcóticos, reduciendo, por tanto, la dosis necesaria para producir anestesia quirúrgica. La sedación puede prolongarse hasta el período post-operatorio de modo que la recuperación es suave.</p> <p><i>Indeseable:</i> Puede producirse hipotensión moderada debido a vasodilatación periférica. También se deprime la termorregulación, pudiendo ocurrir una hipotermia moderada.</p> <p><i>Deseable:</i> Son más potentes. Se utilizan como componentes de combinaciones neuroleptoanalgésicas.</p> <p><i>Indeseable:</i> Los efectos hipotensores de estos fármacos generalmente son menos graves que los de las fenotiacinas.</p>
<p>AGONISTAS ALFA-2-ADRENÉRGICOS:</p> <p>XILACINA MEDETOMIDINA</p>	<p><i>Deseable:</i> Estos efectos incluyen sedación. Potencian la acción de la mayoría de anestésicos y analgésicos narcóticos y producen buena relajación muscular.</p> <p><i>Indeseable:</i> En algunas especies, pueden causar más una excitación y desorientación suaves que sedación. Algunos preparados de diacepam pueden causar irritación y lesiones al inyectarse en vasos sanguíneos pequeños.</p>
<p>ANALGÉSICOS NARCÓTICOS</p> <p>MORFINA PETIDINA FENTANILO BUTORFANOLO METADONA</p>	<p><i>Deseable:</i> Son potentes sedantes y, en algunas especies, son hipnóticos. Sus efectos analgésicos varían según la especie, pero en la mayoría de los animales se produce una analgesia de suave a moderada. Además, la xilacina y la medetomidina potencian marcadamente la acción de la mayoría de los fármacos anestésicos.</p> <p><i>Indeseable:</i> A altas dosis producen depresión cardiovascular y respiratoria y, en algunas especies, pueden producirse arritmias cardíacas tras la administración de xilacina.</p> <p><i>Deseable:</i> Estos compuestos pueden producir sedación moderada y analgesia profunda, pero en algunas especies, su administración en el período pre-operatorio causa hiperactividad y excitación. Los opioides se usan ampliamente como componentes de combinaciones neuroleptoanalgésicas.</p> <p><i>Indeseable:</i> Estos fármacos pueden producir depresión respiratoria (generalmente sólo a altas dosis) y vómitos en algunas especies.</p>

En el caso especial de nuestro trabajo no se utilizó ninguna clase de premedicación anestésica ya que los ratones se sujetan fácilmente de un modo humanitario y raramente será necesario producir sedación antes de la inducción de la anestesia. Si se requiriera en algún otro tipo de experimento, en el *Anexo II* se describen algunos fármacos preanestésicos y sus dosis para el ratón.

2.2 RATÓN

Los ratones se utilizan en investigación porque son animales pequeños, proliferan rápidamente, poseen gran diversidad genética y están bien caracterizados anatómica, bioquímica y fisiológicamente. Ellos son los animales vertebrados más ampliamente usados en investigación biomédica y experimentación (Hrapkiewicz K., 1998).

2.2.1 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS Y FISIOLÓGICAS

Algunas de sus características se presentan en la siguiente tabla:

Género:	Mus
Especie :	musculus
Familia:	Muridae
Orden:	Rodentia
Peso corporal adulto:	
Macho	20-40 g
Hembra	25-40 g
Tiempo de vida:	1.5 a 3 años
Temperatura rectal:	36.5°- 38°C (97.5°F – 100.4°F)
Frecuencia cardiaca:	325-780 puls/min
Frecuencia respiratoria:	60-220 resp/min
Consumo de comida:	12-18 g / 100g / día
Consumo de agua:	15 mL / 100g / día
Tipo de ciclo estral:	Poliéstrico continuó
Duración del estro:	9 a 20 horas promedio.
Determinación de las fases del ciclo estral :	Frotis vaginal
Vida productiva hembra :	7-9 meses

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Duración del ciclo estral :	4 – 5 días
Tipo de ovulación :	espontáneo
Momento de ovulación :	De 2 a 4 horas después de iniciado el estro.
Período de gestación:	De 19 a 21 días
Tamaño de la camada :	10-12 animales (8 animales promedio)
Edad al destete:	21-28 días
Número de cromosomas (diploide):	40

FUENTE: Adaptada por Harkness y Wagner (1995)

La principal cepa utilizada en Investigación es la Albina o Suiza, de las que se crean aproximadamente 1500 cepas.

2.2.2 ANESTESIA EN EL RATÓN

Se utiliza una gran variedad de fármacos para producir anestesia en ratones dentro de los cuales se encuentra el Pentobarbital sódico (PS), barbitúrico que utilizaremos en nuestro trabajo experimental. La dosis efectiva por vía intraperitoneal para producir anestesia de este producto no se conoce, ya que depende de la bibliografía consultada; a continuación se presentan las diferentes dosificaciones encontradas para el mismo producto (Ver *Tabla 2.2.2.1*)

El PS inyectado intraperitonealmente (IP) es un anestésico ampliamente utilizado en el ratón. El tiempo que permanece dormido es de 20 a 40 minutos aproximadamente. La solución comercial del PS debe diluirse 1:9 con agua destilada. Los ratones machos son más susceptibles al fármaco. (Harkness J., 1995).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 2.2.2.1 Dosis Empleadas de Pentobarbital sódico administrado por vía intraperitoneal en el ratón

Autor	Dosis Empleada (mg/Kg)
Taber e Irwin (1969)	40-70 mg/Kg
Clifford (1971)	65-110 mg/Kg
Cunliffe-Beamer (1981)	40-85 mg/Kg
Adams (1995)	28-30 mg/Kg
Branson (1995)	30-80 mg/Kg
Harkness y Wagner (1995)	60-90 mg/Kg
Laber-Laird (1996)	40-50 mg/Kg
Flecknell (1998)	80-90 mg/Kg
Hrapkiewicz (1998)	40-80 mg/Kg
Flecknell (1999)	40-50 mg/Kg
Arras y col. (2001)	30-90 mg/Kg
Plumb (2002)	30-80 mg/Kg

Tomando en cuenta esto tenemos que las dosis de PS inyectado intraperitonealmente para producir anestesia reportado en la bibliografía tienen un rango de **28 a 110 mg/Kg**.

A continuación hablaremos de las características principales del PS así como algunos aspectos de la familia farmacológica a la que pertenece.

2.3 BARBITÚRICOS

Los barbitúricos (BART), esencialmente, son derivados del ácido barbitúrico, producto que fue sintetizado por primera vez en 1864 por Adolf Von Baeyer. El primer representante efectivo del grupo, el barbital, fue descrito como hipnótico en 1903 por Fisher y Von Mering. En 1930 se introduce en terapéutica el Pentobarbital (nembutal). En 1934, Lundy, sustituye el átomo de oxígeno del C₂ por un átomo de azufre obteniendo el ácido tiobarbitúrico, base de los tiobarbituratos. (Cabrera, 1996).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ESTRUCTURA QUÍMICA

Todos los barbitúricos, poseen un núcleo de pirimidina que es el resultado de la condensación del ácido malónico y de la urea (William L., 1981), esencialmente son derivados del ácido barbitúrico (2,4,6-trioxohexahidropirimidina) o malonilurea.

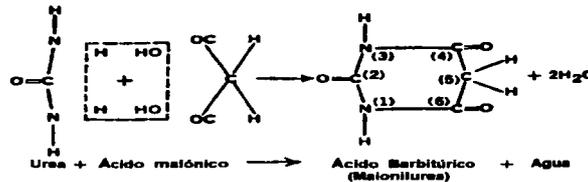


Figura 2.3.1 Formación del ácido barbitúrico partiendo del ácido malónico y de la urea (William L., 1981)

El ácido barbitúrico carece de actividad depresiva central, pero la presencia de grupos alquilo o arilo en la posición 5 le confiere actividades sedantes hipnóticas y, en ocasiones, de otros tipos.

El grupo carbonilo en la posición 2 adopta el carácter ácido a causa de la tautomerización lactam – lactim ("ceto"- "enol"), que se ve favorecida por su localización entre los dos nitrógenos amino electronegativos. Los barbitúricos en los que el oxígeno en C₂ está sustituido por azufre se denominan, en ocasiones, tiobarbitúricos (tiobarbituratos). Estos compuestos son más liposolubles que los oxibarbitúricos correspondientes (Goodman y Gilman, 1996)

En general, los cambios estructurales que incrementan la solubilidad en lípidos disminuyen la duración de la acción y la latencia para la iniciación de la actividad, aceleran la degradación metabólica, aumentan la unión a la albúmina y en muchos casos incrementan la potencia hipnótica. (Cabrera J., 1993).

El barbitúrico más comúnmente usado para producir anestesia general intravenosa en animales de laboratorio es el Pentobarbital sódico que describiremos a continuación.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

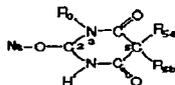
2.3.1 PENTOBARBITAL SÓDICO

NOMBRE QUÍMICO

Sal monosódica del 5-etil-5-(1-metilbutil)-2,4,6(1H,3H,5H)-pirimidinetriona

Sal monosódica del 5-etil-5-(1-metilbutil)-barbiturato

ESTRUCTURA QUÍMICA



R₃ : -H

R_{5a} : -C₂H₅

R_{5b} : - CH (CH₃)CH₂CH₂CH₃

SINÓNIMOS

Pentobarbitona, Nembutal, pentobarbitona sódica, Sagatal.

FORMULA EMPÍRICA

C₁₁H₁₇ N₂ Na O₃

PESO MOLECULAR

248.26

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

QUÍMICA. El PS es un polvo blanco, cristalino o en forma de gránulos, inoloro, ligeramente amargo. Es muy soluble en agua y ligeramente soluble en alcohol. El pKa del fármaco está en un rango de 7.85-8.03 y el rango de pH de la inyección es de 9-10.5. Pueden agregarse alcohol o propilenglicol al producto inyectable para su estabilidad (Plumb D., 2002)

PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS

Los BART deprimen con carácter reversible la actividad de todos los tejidos excitables. El Sistema Nervioso Central (SNC) es particularmente sensible, e incluso cuando se administran en concentraciones anestésicas, son débiles los efectos directos sobre los tejidos periféricos excitables. Sin embargo, en caso de intoxicación aguda por BART

sobrevienen déficits en las funciones cardiovasculares y periféricas de otras clases (Cabrera, 1993).

SNC: El PS puede producir todos los grados de depresión del SNC, que varían entre sedación leve y anestesia general. Puede tener efectos eufóricos (euforizantes) y actividad anticonvulsiva selectiva (Goodman y Gilman, 1996)

La percepción del dolor y la reacción al mismo se conservan relativamente sin cambios hasta el momento en que se pierde el conocimiento, y en dosis pequeñas incrementan la reacción a los estímulos dolorosos. (Goodman y Gilman, 1996)

Este fármaco actúa por todo el SNC; las dosis no anestésicas suprimen de preferencia las reacciones polisinápticas. Disminuye la facilitación, y suele intensificarse la inhibición. El sitio de inhibición es post-sináptico –como sucede en las células corticales y piramidales del cerebelo y el núcleo cuneiforme, la sustancia negra y las neuronas talámicas de relevo-, o bien, pre-sináptico, como ocurre en la médula espinal. Se intensifica la inhibición primordialmente a nivel de las sinapsis en las que la neurotransmisión es mediada por el GABA (ácido γ - amino butírico) que actúa en los receptores GABA_A. (Goodman y Gilman, 1996, Cabrera, 1993). También se muestra la inhibición para liberar la acetilcolina, norepinefrina y glutamato. El PS se ha mostrado que puede ser GABA - mimético. A dosis anestésicas altas, se han demostrado que también inhibe la captación de calcio en los nervios (Adams R., 1995)

Hígado. A nivel hepático inhibe el sistema enzimático por la combinación con el citocromo P₄₅₀ y, produce una interferencia competitiva con la biotransformación de distintas sustancias, así como de muchos medicamentos (Cabrera, 1993).

Sistema cardiovascular. A dosis mayores (hipnóticas) puede provocar una ligera hipotensión y bradicardia. A dosis aún superiores produce una manifiesta depresión de dicho sistema. En muchas especies, los BART causan una depresión respiratoria dosis-dependiente. Pero en algunas especies ellos pueden causar una estimulación respiratoria ligera. A dosis sedante/hipnótica la depresión respiratoria es similar a la que se presenta durante el sueño fisiológico normal. Al aumentar las dosis, el centro respiratorio medular es progresivamente deprimido con disminución resultante en frecuencia, profundidad y volumen. La detención respiratoria puede ocurrir en 4 tiempos bajos de dosis que pueden causar paro cardíaco.

El PS ha sido demostrado que causa taquicardia, disminución del volumen de contractilidad miocárdica y apoplejía, y disminución significativa de la presión arterial y resistencia total periférica.

USOS /INDICACIONES.

Alguna vez el PS fue el agente principal usado para la anestesia general en animales pequeños, pero ha sido principalmente reemplazado por los agentes anestésicos inhalados. Todavía se usa comúnmente como un anestésico en laboratorios, para los roedores y de vez en cuando como agente sedante en perros y gatos (Plumb D., 2002)

Aunque el PS se usa en varias especies, es aceptado por la Food and Drug Administration (FDA) para el uso sólo en perros y gatos (Adams R., 1995).

El PS es el ingrediente activo principal en varias soluciones para producir eutanasia, y por vía parenteral es usado de forma intermitente como hipnótico, sedante o como medicación pre-anestésica; para efecto de nuestra investigación es el barbitúrico más utilizado en animales de laboratorio para producir anestesia general intravenosa.

FARMACOCINÉTICA.

El PS es absorbido rápidamente hacia el intestino después de su administración. Aunque es menos lipofílico que los barbitúricos de acción ultra corta (ejemplo tiopental), el PS es altamente soluble en lípidos (Coeficiente de partición 39). Todos los barbitúricos atraviesan la placenta. (Cabrera R., 1993)

El PS se metaboliza en el hígado principalmente por oxidación. La excreción del fármaco es principalmente por la orina. Tiene en promedio una vida media de 21-42 horas dependiendo de la especie animal con la que se trabaje, su porcentaje de unión a las proteínas plasmáticas es bajo (alrededor de 40%) y por ser ácido se une a la albúmina principalmente (Seymour C., 1999). Su volumen de distribución es de 0.5-1.01 L/Kg.

2.4 CURVA DOSIS RESPUESTA CUANTAL

Para tratar de establecer el mecanismo de acción de un fármaco, analizando el mismo, es indispensable hallar primero las relaciones de magnitud entre la dosis del fármaco y la intensidad de los efectos producidos o respuestas biológicas, lo que da lugar a la llamada *curva dosis-respuesta* (Litter M., 1986).

Los principios derivados de las curvas dosis-respuesta son los mismos en animales y humanos. Sin embargo, obtener los datos por completo de curvas dosis-respuesta en humanos es generalmente muy difícil o peligroso. Nosotros debemos, por consiguiente, emplear datos de animales para ilustrar estos principios (Craig C., 1997).

Para elegir entre diversos fármacos y determinar la dosis adecuada, debemos conocer la *Potencia Farmacológica Relativa* y la *Eficacia Máxima* de los fármacos en cuanto al efecto terapéutico deseado. (Figura 2.4.1).

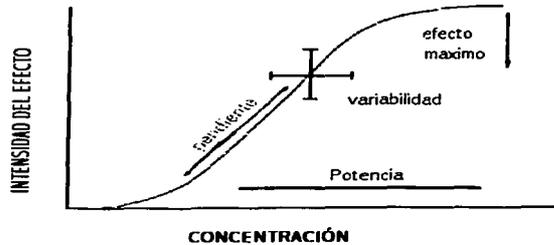


Figura 2.4.1 Relación concentración logarítmica-efecto. (Goodman y Gilman, 1996)

POTENCIA: Se refiere al rango de dosis en la cual el fármaco produce un incremento en la respuesta, es decir, la concentración (CE_{50}) o dosis (DE_{50}) de un fármaco que se requiere para producir 50% del efecto máximo de este medicamento. Este parámetro depende, en parte, de la afinidad (K_D) de los receptores para unirse al fármaco y de la eficiencia con la cual la interacción fármaco-receptor se acopla a la respuesta.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

EFICACIA MÁXIMA: Refleja el límite superior de la relación dosis-respuesta sobre el eje de la respuesta que puede presentar un fármaco, y puede estar determinada por el modo de las interacciones del fármaco con los receptores. Es el efecto máximo que puede ejercer un medicamento.

RELACIÓN CUANTAL

En ciertos bioensayos, el analista a menudo está interesado en medir la potencia de una preparación que no genera una respuesta graduada medible en un sistema individual. Más bien, la respuesta es absoluta para la unidad de prueba, es decir, ésta responde o no a la dosis empleada dependiendo de su susceptibilidad o tolerancia. Este tipo de respuesta de todo o nada es conocida como una *respuesta cuantitativa* o *cuántica* (FEUM, 2000).

Además de la sensibilidad de un paciente dado, uno puede estar interesado en la relación que existe entre dosis y algunos parámetros específicos de la respuesta entre todos los individuos que tomaran ese fármaco. Tal información es obtenida evaluando datos obtenidos de una *curva dosis-respuesta cuantitativa (CDRC)*. La construcción de una *curva dosis-respuesta cuantitativa* requiere que los datos sean obtenidos de muchos individuos. (Ver Figura 2.4.2A)

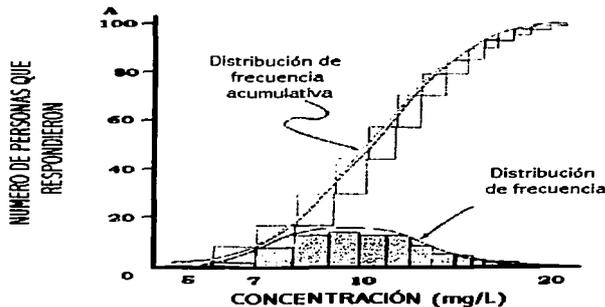


Figura 2.4.2A Curvas de Distribución de Frecuencia. (Goodman y Gilman, 1996).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La curva de la relación del porcentaje de respuesta con la dosis, es una sigmoide asimétrica, tal que el extremo inferior de la curva es más corto que el extremo superior derecho. Al transformar las dosis a sus logaritmos, la distribución se aproxima a la forma de una distribución normal acumulada, que por definición es simétrica.

La relación logaritmo dosis-respuesta se puede linealizar haciendo una transformación de la respuesta. A la respuesta transformada se le llama en general metámero. Utilizando regresión lineal con estos metámeros, es posible determinar las dosis que producen cualquier porcentaje de respuesta (%K), y a la dosis que lo produce, se le conoce como dosis efectiva K o DE_k . (FEUM, 2000)

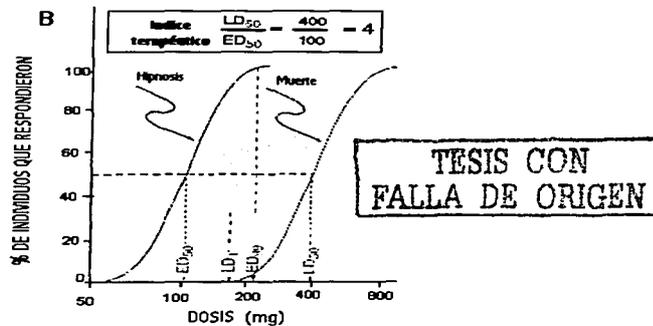


Figura 2.4.2B Curvas de dosis efecto de todo o nada. (Goodman y Gilman, 1996)

De acuerdo con estas curvas podemos determinar varios parámetros como:

Dosis Efectiva Media (DE_{50}): Es la dosis de un agente necesaria para producir un efecto específico en la mitad de la población (50%), este valor es el que se obtiene con la mayor precisión. En nuestro trabajo el efecto específico que buscamos es la hipnosis.

Otra característica importante de la actividad de un fármaco es su efecto tóxico. Obviamente, el último efecto tóxico es la muerte. De manera similar, la dosis necesaria para producir un efecto tóxico particular en 50% de los animales se llama **Dosis Tóxica Media (DT₅₀)**. Si el efecto tóxico causa la muerte del animal, se puede definir experimentalmente la **Dosis Letal Media (DL₅₀)** (Katzung B., 2002). Dentro de nuestro trabajo experimental tanto la DT₅₀ como la DL₅₀ son la muerte del animal.

Ya que el grado de seguridad asociado con la administración del fármaco depende de una separación adecuada entre la dosis que produce un efecto terapéutico (DE₅₀) y la dosis que produce un efecto tóxico o letal (DL₅₀), uno puede usar una comparación de estas dos dosis para estimar la *seguridad* de un fármaco. Por lo tanto el **Índice Terapéutico** es una medida que relaciona la dosis de un fármaco que se requiere para producir un efecto deseado con la dosis que produce un efecto no deseado y suele definirse como el cociente de DL₅₀ sobre DE₅₀, este parámetro señala el grado de *selectividad* que posee un fármaco para generar los efectos buscados.

$$\text{Índice Terapéutico} = \frac{DL_{50}}{DE_{50}}$$

Como una regla general, un fármaco debe tener un alto índice terapéutico, sin embargo, algunos agentes terapéuticos importantes tienen bajos índices.

Se ha sugerido que una estimación más realista de seguridad de un fármaco involucrará una comparación de la dosis más baja que produce toxicidad (DL₁) y la dosis más alta que produce una respuesta terapéutica máxima (DE₉₉). El uso de estos parámetros da lugar al **Margen de Seguridad**.

$$\text{Margen de Seguridad} = \frac{DL_1}{DE_{99}}$$

2.5 RELOJES BIOLÓGICOS

La existencia de los relojes biológicos que regulan el funcionamiento de todos los organismos vivos se conoce desde tiempo inmemorial.

La **cronobiología** es el estudio de los mecanismos y significado de los ritmos biológicos en los seres vivos, mientras que la **cronoterapia** es la administración de los medicamentos sobre la base de los ritmos biológicos. Entendiendo estas dos definiciones, la **cronofarmacología** es la influencia de los ritmos biológicos sobre la cinética y dinámica de los medicamentos. Todo esto nos lleva a la homeostasis del individuo que es sometido a la influencia de un fármaco. (Ruesga Z, 1999)

RELOJ INTERNO

En nuestro organismo inciden pautas diversas. Las más estudiadas en los últimos tiempos son los ritmos circadianos (del latín *circa*: alrededor y *dies*: día). Los **ciclos circadianos** comprenden todos aquellos procesos fisiológicos que presentan fluctuaciones con un ritmo de aproximadamente 24 horas. Entre ellos están el ciclo sueño-vigilia, las variaciones de la temperatura corporal, el estado de alerta y algunas funciones neuroendocrinas, como la secreción de cortisol y melatonina. Todos ellos se rigen por la actividad del llamado "sistema circadiano", que está compuesto por una serie de estructuras nerviosas y sus complejas asociaciones, hasta la fecha conocidas de manera parcial. (Nature, 1996).

CLASIFICACIÓN DE RITMOS

Enright (1981) clasificó a los ritmos biológicos en tres grupos de acuerdo con la frecuencia de su oscilación:

1. Ritmos Ultradianos: ciclos que ocurren varias veces en un día, tienen períodos menores a 19 hrs., por ejemplo, el ritmo respiratorio, el ritmo cardíaco, las ondas eléctricas cerebrales, etc.
2. Ritmos Circadianos: ya mencionados antes.
3. Ritmos Infradianos: su período es mayor a 29 horas, algunos ejemplos son: el ciclo menstrual de mamíferos y los ciclos reproductivos, etc.

Uno de los grandes retos de la cronoterapia es la de aplicar los tratamientos de acuerdo con los ritmos circadianos para hacerlos más efectivos.

CAPÍTULO III

3.1 OBJETIVO PARTICULAR:

- Determinar la Dosis Efectiva (DE_{50}), Dosis Tóxica (DT_{50}) y Dosis Letal (DL_{50}) en la Curva Dosis Respuesta Cuantal administrando cuatro genéricos de Pentobarbital sódico por vía intraperitoneal a dos tiempos predeterminados en la especie *Mus musculus*.

3.2 OBJETIVOS GENERALES:

- Determinar el Margen de Seguridad e Índice Terapéutico del Pentobarbital sódico con respecto a los parámetros obtenidos en la Curva Dosis Respuesta Cuantal.
- Demostrar las diferencias entre cuatro genéricos con respecto a su efecto hipnótico.
- Observar las diferencias en los parámetros a medir con respecto al tiempo, es decir si existe diferencia en el efecto hipnótico si cambiamos la hora de administración.

CAPÍTULO IV

HIPÓTESIS:

Al administrar el mismo fármaco (pentobarbital sódico) de cuatro genéricos utilizados en México, se obtendrá el mismo efecto anestésico (Hipnosis) en cada uno de ellos y la dosis efectiva, dosis tóxica y dosis letal así como los parámetros de Margen de Seguridad e Índice terapéutico serán iguales al administrarlos por vía intraperitoneal a las 10:00 y a las 16:00 hrs. en ratones macho de la especie *Mus musculus* cepa CFW.

CAPÍTULO V

MATERIAL Y MÉTODOS

> MATERIAL

A. Material Biológico

Se utilizaron 288 ratones macho de la especie *Mus musculus* cepa CFW (cepa abierta) con peso de 25 a 30 g con acceso libre de agua y alimento (Lab Chow Purina 5015 y 5007).

Todos los animales provienen del Bioterio de la Facultad de Química y no han sido sometidos a experimentación previa.

B. SUSTANCIAS

4 marcas comerciales de genéricos de Pentobarbital sódico (63 mg/mL), presentación solución inyectable de uso veterinario que se describirán de la siguiente manera:

- Genérico 1: A2186
- Genérico 2: S0502
- Genérico 3: C0201
- Genérico 4: L0213

C. SOLUCIONES

- Agua Destilada

D. EQUIPO DE CURACIÓN

Las jeringas desechables de plástico son preferibles a las reutilizables de cristal. Las jeringas diseñadas para la administración de insulina en pacientes humanos son especialmente útiles para la administración de pequeñas dosis de fármacos a roedores, por lo tanto se utilizaron jeringas PLASTIPAK B-D (Becton Dickinson) de 1 mL., con aguja de acero inoxidable calibre 27 G ½ x 13 mm.

E. EQUIPO FIJO

- Balanza Granataria
- Cronómetro
- Marcadores indelebles

> **PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL**

El método utilizado en este trabajo experimental fue el de medición de latencias para diferenciar cada etapa de la anestesia, así tenemos que:

LATENCIA DE SEDACIÓN: Es el tiempo que transcurre desde la administración del fármaco hasta la presentación de incoordinación motora del animal.

LATENCIA DE HIPNOSIS: Es el periodo de tiempo desde la administración del fármaco hasta la pérdida del reflejo de enderezamiento del animal.

LATENCIA DE RECUPERACIÓN: Es el periodo de tiempo desde la administración del fármaco hasta la recuperación de la conciencia del animal cursando por la sedación e hipnosis.

DURACIÓN DE LA HIPNOSIS: Es el periodo de tiempo desde la pérdida del reflejo de enderezamiento del animal hasta la recuperación del mismo.

MUERTE: En caso de que el animal no se recupere, pierde el reflejo de enderezamiento y la frecuencia cardíaca y respiratoria y por lo tanto se presenta la muerte.

Se formaron 8 grupos aleatoriamente con una n de 36 ratones (por cada genérico utilizado se requería 2 grupos, el primero se administraba a las 10:00 hrs., y el segundo a las 16:00 hrs.), cada grupo recibió el siguiente tratamiento.

1. Pesar y marcar 6 ratones para cada concentración de Pentobarbital sódico.
2. Administrar por vía intraperitoneal pentobarbital sódico a las siguientes dosis:

Ratón	Dosis PS (mg/kg)	Concentración PS (mg/mL)
1-6	3.2	0.32
7-12	8.0	0.80
13-18	20	2.0
19-24	50	5.0
25-30	125	12.5
31-36	312.5	31.2

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3. Observar cuidadosamente a los animales después de la administración del fármaco ($t=0$) durante 30 minutos y valorar si el animal llegó a la *hipnosis* (pérdida del reflejo de enderezamiento) o bien, a la *muerte*.
4. Los datos obtenidos serán recopilados y resumidos en tablas para construir la CDRC.
5. A partir de las tablas se construirán las gráficas de:
 - % de respuesta vs Logaritmo de la dosis y determinaremos la DE_{50} y DL_1 .
 - Unidades probit vs Logaritmo de la dosis y se determinará la DE_{50} , DT_{50} , y DL_{50} .

DE_{50} = Dosis Efectiva 50

DT_{50} = Dosis Tóxica 50

DL_{50} = Dosis Letal 50

6. En las gráficas de unidades probit vs logaritmo de la dosis interpolamos el valor de 5 en unidades probit que corresponde al 50% de la respuesta y obtenemos los valores de DE_{50} , DT_{50} , y DL_{50} para cada efecto evaluado.
7. De los datos obtenidos de la CDRC podremos obtener los parámetros de Índice Terapéutico y Margen de Seguridad.

$$IT = DL_{50} / DE_{50}$$

$$MS = DL_1 / DE_{90}$$

Para determinar el 0% y 100% de respuesta en Unidades de Probabilidad (probit) se utilizan las siguientes formulas:

$$0\% = 0.25 / n * 100$$

$$100\% = n - 0.25 / n * 100$$

Donde n = número de ratones = 6

8. Se realizó corrección por medio de regresión lineal aplicando la siguiente fórmula:

$$\mu = 5 - \alpha/\beta$$

que se utiliza para el cálculo más exacto de la Dosis Efectiva 50 (Toxicidad Aguda), que esta referida en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. (FEUM, 2000).

9. Se realizó Análisis de Varianza (ANOVA) en los resultados obtenidos de la duración de hipnosis y en los datos donde se rechaza la hipótesis nula se aplicó la prueba de Scheffe para ver las diferencias con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$.

CAPÍTULO VI

RESULTADOS

CURVAS DOSIS RESPUESTA CUANTAL PARA CADA GENÉRICO

Las unidades probit se tomarán de tablas (Ver Anexo III). El valor del 0% es 3.249 y el de 100% es 6.728, respectivamente. A continuación se describen los datos que necesitamos para graficar nuestra CDRC. Estos cálculos se realizan para cada uno de los genéricos de PS y a las diferentes horas de administración.

PRODUCTO: A2186

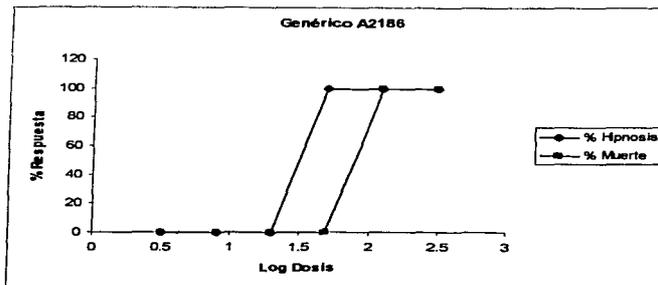
Tiempo de experimentación: 30 min.

Ratones: Macho (6 por cada concentración).

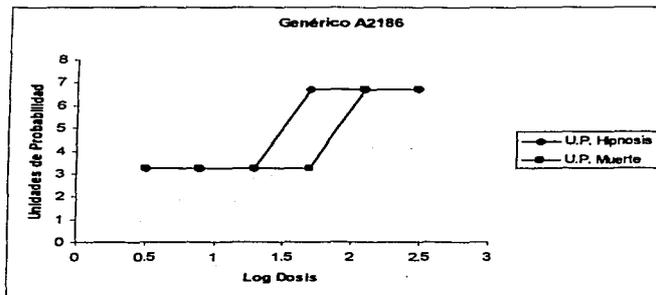
10:00 hrs.						16:00 hrs.			
Dosis (mg/Kg)	Log Dosis	%H	%M	U.P.H	U.P.M	%H	%M	U.P.H	U.P.M
3.2	0.51	0	0	3.249	3.249	0	0	3.249	3.249
8	0.9	0	0	3.249	3.249	0	0	3.249	3.249
20	1.3	0	0	3.249	3.249	16.66	0	4.006	3.249
50	1.7	100	0	6.728	3.249	100	0	6.728	3.249
125	2.096	100	100	6.728	6.728	100	100	6.728	6.728
312	2.494	100	100	6.728	6.728	100	100	6.728	6.728

Nota: H = Hipnosis; M = Muerte; U.P. = unidades probit o de probabilidad

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



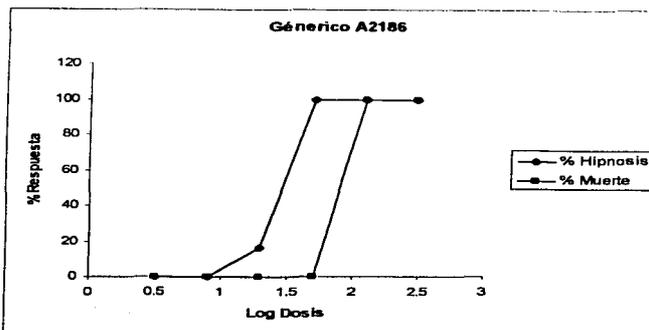
Gráfica 1. CDRC del Porcentaje de Respuesta del A2186 administrado por vía intraperitoneal (IP) a las 10:00 hrs. Su DE_{99} es de 49.659 mg/Kg y su DL_1 es 50.583 mg/Kg, por lo tanto presenta un Margen de Seguridad (MS) de 1.021.



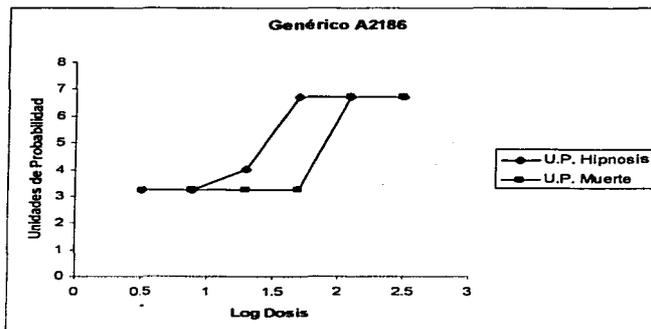
Gráfica 2. CDRC de las Unidades de Probabilidad del A2186 administrado por vía IP a las 10:00 hrs. Su DE_{50} es de 31.987 mg/Kg y su DL_{50} es 62.488 mg/Kg, por lo que presenta un Índice Terapéutico (IT) de 1.954.

Nota: Los valores con asterisco (**) ya están corregidos estadísticamente utilizando el modelo de regresión lineal que exige la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Gráfica 3. CDRC del Porcentaje de Respuesta del A2186 administrado por vía IP a las 16:00 hrs. Su DE_{50} es de 49.545 mg/Kg y su DL_{10} es 50.583 mg/Kg, por lo tanto presenta un MS de 1.019.



Gráfica 4. CDRC de las Unidades de Probabilidad del A2186 administrado por vía IP a las 16:00 hrs. Su DE_{50} es de 28.029 mg/Kg y su DL_{50} es 62.488 mg/Kg, por lo que presenta un IT de 2.229.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Dentro del desarrollo del trabajo experimental los genéricos S0502, C0201 y L0213 se comportaron de la misma manera y sus resultados dentro de la CDRC son iguales es por esto que se muestra solo una tabla de los resultados obtenidos por estos tres genéricos.

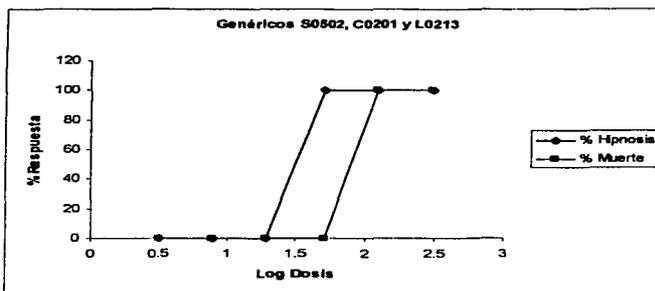
PRODUCTO: S0502, C0201, L0213

Tiempo de experimentación: 30 min.

Ratones: Macho (6 por cada concentración).

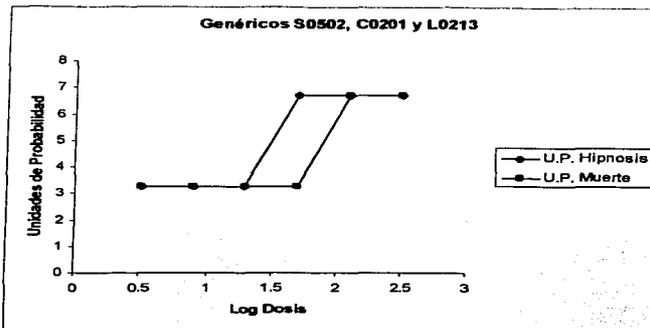
Dosis (mg/Kg)	Log Dosis	10:00 hrs.				16:00 hrs.			
		%H	%M	U.P.H	U.P.M	%H	%M	U.P.H	U.P.M
3.2	0.51	0	0	3.249	3.249	0	0	3.249	3.249
8	0.9	0	0	3.249	3.249	0	0	3.249	3.249
20	1.3	0	0	3.249	3.249	0	0	3.249	3.249
50	1.7	100	0	6.728	3.249	100	0	6.728	3.249
125	2.096	100	100	6.728	6.728	100	100	6.728	6.728
312	2.494	100	100	6.728	6.728	100	100	6.728	6.728

Nota: H = Hipnosis; M = Muerte; U.P. = unidades probit o de probabilidad

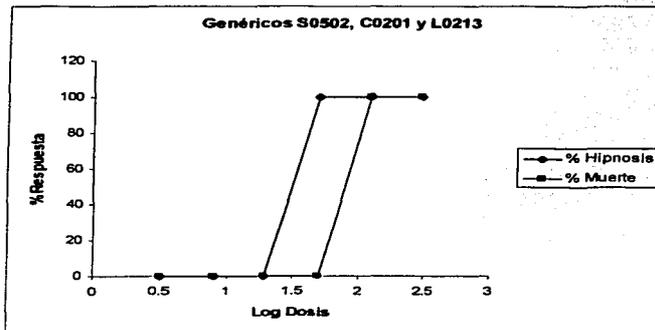


Gráfica 5. CDRC del Porcentaje de Respuesta de los genéricos S0502, C0201 y L0213 administrados por vía IP a las 10:00 hrs. Su DE_{50} es de 49.659 mg/Kg y su DL_1 es 50.583 mg/Kg, por lo tanto presentan un MS de 1.021.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

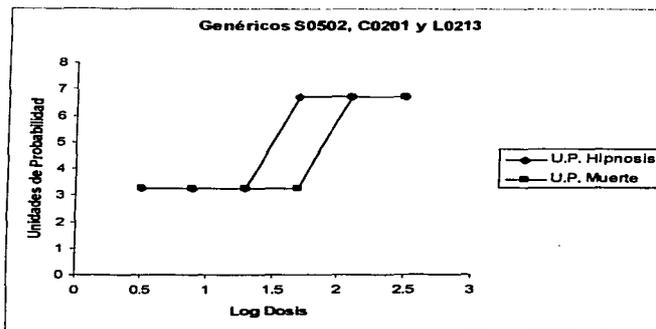


Gráfica 6. CDRC de las Unidades de Probabilidad de los genéricos S0502, C0201 y L0213 administrados por vía IP a las 10:00 hrs. Su ****DE₅₀** es de 31.987 mg/Kg y su ****DL₅₀** es 62.488 mg/Kg, por lo que presentan un ****IT** de 1.954.



Gráfica 7. CDRC del Porcentaje de Respuesta de los genéricos S0502, C0201 y L0213 administrados por vía IP a las 16:00 hrs. Su **DE₅₀** es de 49.659 mg/Kg y su **DL**, es 50.583 mg/Kg, por lo tanto presentan un **MS** de 1.021.

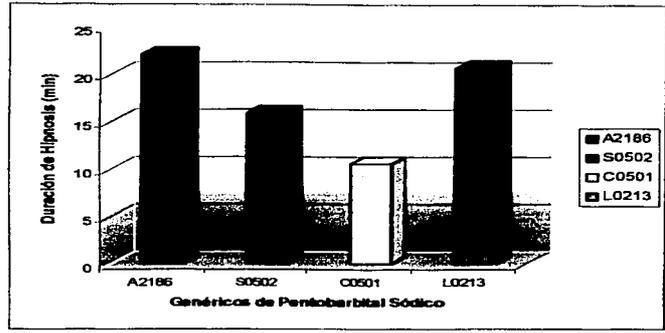
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



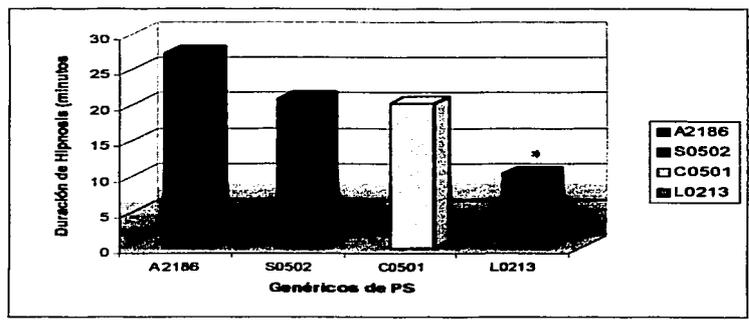
Gráfica 8. CDRC de las Unidades de Probabilidad de los genéricos S0502, C0201 y L0213 administrados por vía IP a las 16:00 hrs. Su ****DE₅₀** es de 31.987 mg/Kg y su ****DL₅₀** es 62.488 mg/Kg, por lo que presentan un ****IT** de 1.954.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

COMPARACIÓN DE DURACIÓN DE HIPNOSIS



Gráfica 9: Duración de la hipnosis de cuatro genéricos de PS administrado a las 10:00h



Gráfica 10: Duración de la hipnosis de cuatro genéricos de PS administrados a las 16:00 h. * Diferencia significativa a p=0.05

CAPÍTULO VII

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos de los parámetros evaluados en la CDRC, muestran el comportamiento de los genéricos administrados a diferentes concentraciones y tiempos de muestreo.

En lo que se refiere a los genéricos S0502, C0201 y L0213 (*Gráficas 5, 6, 7, 8*) presentan un comportamiento similar dentro de los parámetros evaluados en la CDRC sin presentar cambios significativos con respecto a la hora de administración del PS, ya que su DE_{50} es de 31.987 mg/Kg en ambos tiempos, así como su DL_{50} es de 62.488 mg/Kg, por lo que estos genéricos presentan un IT de 1.954, lo que indica que su capacidad para producir un efecto tóxico es muy grande, puesto que no hay una separación considerable entre las dosis, esto se corrobora con su MS que es de 1.021 (Flecknell P.,1998).

Con respecto al genérico A2186 se encontró que existen diferencias significativas de su seguridad en cuanto a su hora de administración. En las administraciones que se realizaron a las 10:00 hrs. (*Gráficas 1 y 2*), se muestra que su DE_{50} es de 31.987 mg/Kg y su DL_{50} es 62.488 mg/Kg, presentando un IT de 1.954 y un MS de 1.021. Este comportamiento es similar a los genéricos S0502, C0201 y L0213. Pero al cambiar de hora de administración se presenta un cambio en la pendiente de la CDRC (*Gráficas 3 y 4*), con lo cual se presenta una DE_{50} de 28.029 mg/Kg sin cambiar su DL_{50} que es de 62.488 mg/Kg, este cambio provoca que el Índice Terapéutico aumente a 2.230 y el Margen de Seguridad no se modifica, por lo que podríamos considerar que el PS es más potente en su efecto hipnótico a las 16:00 hrs que a las 10:00 hrs y es más seguro respecto a su IT. Esto puede deberse a la interacción de los excipientes de la forma farmacéutica que pueden estar potenciando el efecto, o presentando un sinergismo.

Con respecto a la duración del efecto hipnótico se realizó una comparación entre los cuatro genéricos a través de un análisis de Varianza (ANOVA) para verificar si no hay diferencias entre cada uno de los tratamientos desarrollados, nos encontramos con que a las 10:00 hrs no hay diferencias significativas con respecto a la duración de Hipnosis (*Gráfica 9*), por el contrario, a las 16:00 hrs se observó que si existen diferencias con

respecto a la duración de hipnosis (Gráfica 10), y por lo cual se realizó una prueba de Scheffe y se encontró que el genérico L0213 es el que presenta diferencia significativa entre los pares de genéricos con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

La Duración de hipnosis se observa a una dosis de 50 mg/Kg y el tiempo para llegar a este efecto es aproximadamente de 4.5 minutos, por lo que se confirma que el PS es un barbitúrico de acción corta; con esta dosis todos los animales se recuperaron y su tiempo de hipnosis es aproximadamente de 21.6 minutos.

Con respecto al tiempo de administración de los genéricos se realizó el análisis estadístico utilizando la prueba de F y la prueba de U de Mann Whitney para comparar entre las muestras a diferentes tiempos y obtuvimos que no hay diferencias significativas a excepción del genérico L0213 que si presenta diferencias con respecto a su tiempo de administración ya que el tiempo de hipnosis es mayor si se administra el fármaco a las 10:00 hrs., que si se hiciera a las 16:00 hrs. Esto puede deberse a que los ratones son animales nocturnos y por ende su metabolismo es más rápido en horas más cercanas a la noche.

El PS ha sido reportado como anestésico general, sedante e hipnótico y anticonvulsivo por mencionar algunos de sus efectos farmacológicos.

El principal mecanismo de acción para estos efectos farmacológicos del PS, es sobre receptores GABA, los cuales inhiben las actividades del SNC.

Los resultados muestran que se tiene un efecto hipnótico en un rango de 28.029 - 31.987 mg/Kg sin presentar efectos adversos, y con un tiempo de hipnosis de 20 minutos, con esto se reduce el rango que esta reportado en la Literatura (28 a 110 mg/Kg, Harkness y varios autores, 1995).

Esto puede deberse a que en este rango de dosis se están saturando los receptores a GABA, que es mecanismo responsable del efecto. También es recomendable administrar este producto en horas matutinas para evitar el metabolismo del PS y así administrar a los animales menos fármaco y producir menos efectos tóxicos.

Un estudio más fino con dosis intermedias y a distintos tiempos del día, así como diferentes cepas de ratón nos ayudaría a predecir la mejor dosificación para el animal y la mejor hora de administración.

El punto importante es que después de realizar este estudio se observó que el PS presenta una escasa seguridad y múltiples efectos adversos, que intervienen en los resultados obtenidos, por lo que una recomendación sería ya no utilizar este fármaco para anestesia en ratones y otras especies, y sólo se utilice como agente eutanasico. Además se debe informar a los investigadores sobre estos resultados y recomendar el uso de otros agentes anestésicos mucho más seguros, y así disminuir los costos de investigación por una mala anestesia en los procedimientos experimentales.

CAPÍTULO VIII

CONCLUSIONES

- ▲ La administración de PS en ratones macho de la cepa CFW produce hipnosis
- ▲ Los resultados obtenidos demuestran que la DE_{50} del PS en ratones macho de la cepa CFW esta en un rango de 28.029 - 31.987 mg/Kg, y su DL_{50} es de 62.488 mg/Kg.
- ▲ La administración del PS es más efectiva a las 10:00 hrs.
- ▲ Si existen diferencias en cuanto al genérico utilizado con respecto al IT y al MS.
- ▲ El genérico mas potente es el A2186 y es más eficaz.
- ▲ El IT es de 1.954 a las 10:00 hrs con un MS de 1.021.

ANEXO I

Cronología de la anestesia

AÑO	ACONTECIMIENTO
3000-1000 A.C.	Las civilizaciones remotas emplearon amapola de opio, hojas de coca y de mandrágora, alcohol y aun flebotomía (hasta el punto de inconsciencia) para permitir al cirujano operar. Los asirios conocían un método eficaz para causar "anestesia", aunque no exento de peligro, comprimiendo la carótida a nivel del cuello con la consiguiente isquemia cerebral y la aparición de un estado comatoso lo cual era aprovechado para la cirugía (Morgan E., 1992). Es posible que los Incas hayan practicado anestesia local cuando masticaban hojas de coca con alcalinos ya que conocían el adormecimiento en la lengua y labios (Orden M., 1994).
460-377 A.C.	Hipócrates uso la "esponja soporífera" que era una preparación de opio, beleño y mandrágora. En otras civilizaciones antiguas como la china, además de la acupuntura se describe la utilización de la marihuana para producir inconsciencia y evitar el dolor.
1770 - 1780	Fueron descubiertos por Joseph Priestley y Antoine Laurent Lavoisier el óxido nítrico y el anhídrido carbónico, y en 1800 Humphry Davy utiliza el óxido nítrico para evitar el dolor en las extracciones dentales.
1823	El médico Henry Hill Hickmann consiguió insensibilizar a diversos animales para operarles en estado de inconsciencia, inhalando CO ₂ , y Claude Bernard estudió un tóxico de primera importancia, el curare.
1831	Samuel Guthrie (USA), Eugene Souberrain (Francia), y Justus Von Liebig (Alemania) sintetizan el cloroformo.
1832	El hidrato de cloral fue sintetizado por Liebig e introducido posteriormente en medicina como hipnótico y anestésico por Liebreich.
1842	Crawford W. Long utiliza el dietiléter para producir anestesia quirúrgica, más no dio a conocer su experiencia hasta después de la presentación de Morton.
1844	En Diciembre, el odontólogo Horacio Wells mientras respiraba óxido nítrico, pidió que se le extrajera uno de sus propios dientes, sin dolor. (Goodman & Gilman, 1996).
1846	Morton recibe el crédito por la creación de la anestesia quirúrgica. (Goodman & Gilman, 1996)
1847	El éter resultó ideal entre los primeros anestésicos. El siguiente anestésico que se utilizó con amplitud fue el cloroformo. Introducido por el obstetra escocés James Simpson. (Goodman & Gilman, 1996). En este mismo año se describen las propiedades anestésicas del cloruro de etilo por Fluorens.
1859	Albert Niemann observó que el polvo de la cocaína tenía sabor amargo y provocaba adormecimiento de la lengua.
1864	Von Baeyer sintetiza el ácido barbitúrico.
1868	Edmund W. Andrews describió la administración de ácido nítrico con oxígeno para dar anestesia quirúrgica, describiendo así la "anestesia por intervalos".
1882	Freund preparó el ciclopropano.
1884	Carl Koller utiliza la cocaína para producir anestesia tópica conjuntival, y mas tarde Joseph Brettauer demuestra los efectos anestésicos locales en la córnea.
1887	Paul Bert investiga la relación que tiene el efecto de concentración y la profundidad de la anestesia.
1902	M. J. Seifert define "anestesiología" como la ciencia que incluye los métodos y recursos para producir la insensibilidad al dolor, con hipnosis o sin ella.
1903 -05	Fischer y Von Mering introducirían el veronal o dietil-barbitúrico en 1903, y el dipropilbarbitúrico en 1905.
1905	Einhorn sintetiza la procaína.
1911	Se sintetiza el hexobarbital, primer barbitúrico endovenoso, por Fischer y Von Mering.

	Tras el entusiasmo inicial, la evolución de la anestesiología se caracterizó por un cambio lento y progreso limitado en Estados Unidos, sin embargo, simultáneamente se fueron desarrollando aparatos para hacer posible la aplicación de la anestesia por diferentes vías, así como también se desarrollaron las técnicas anestésicas.
1927	McElvain sintetiza la piperocaína y en 1928 Eisleb sintetiza la tetracaína.
1929	La dibucaína fue descubierta por Uhlman al tiempo que Kirschner describía el tribromoetano como anestésico endovenoso. Zefras y McCallum descubrieron las propiedades anestésicas del ciclopropano.
1930	Fitch, Waters y Tatum introducen el pentobarbital como anestésico endovenoso y Sword describe el ciclo respiratorio anestésico y el sistema de absorción de bióxido de carbono.
1934	Jackson y Cindinnati describen las propiedades anestésicas del tricloetileno.
1935	John Lundy utiliza el tiopental (tiobarbitúrico de acción rápida) como agente para la inducción rápida de anestesia general. Se ensambó el primer aparato de anestesia con vaporizadores para éter (Goodman & Gilman's, 1996).
1943	Lofgren y Lundquist sintetizan la lidocaína y en 1944 se descubren la hexilcaína y la 2-cloroprocaina por Cope y Marks respectivamente.
1946	Bovet prepara la d-tubocurarina, primer símil sintético del curare.
1956	British Research Council y los químicos de Imperial Chemical Industries desarrollaron el halotano, anestésico no inflamable. Este fármaco revolucionó la anestesia por inhalación (Goodman & Gilman's, 1996).
1961	E.I. Eger introduce el concepto de "concentración alveolar mínima" (CAM).
1963	R.C. Terrel sintetiza el enflurano y se usa clínicamente hasta 1966. En ese mismo año se sintetiza la Ketamina, a partir de su precursora la fenzilidina. En 1965 Terrel sintetiza el isoflurano.
1968	Takman sintetiza la etidocaína.
1980	La FDA aprueba el uso en los Estados Unidos del isoflurano. Los estudios clínicos de este halogenado habían iniciado desde 1970, pero tardó en salir al mercado por los reportes de carcinogénesis que se habían obtenido de él, al año siguiente se utiliza en clínica.

Hace poco se empezaron a usar como anestésicos varias combinaciones de fármacos intravenosos de diversas clases, por lo general en combinación con óxido nítrico. El uso de opioides de acción breve en solución intravenosa de administración constante es un adelanto actual muy estimulante en el campo de la anestesia.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO II
SEDANTES, TRANQUILIZANTES Y OTRA MEDICACIÓN PRE-ANESTÉSICA
EN EL RATÓN

<i>Farmaco</i>	<i>Dosis</i>	<i>Efecto en ratón</i>
Acepromacina	2 – 5 mg/Kg i/p, s/c	Sedación ligera
Atropina	0.04 mg/Kg s/c	Anticolinérgico
Diacepam	5 mg/Kg i/p, i/m	Sedación ligera
Fentanilo/droperidol (Innovar Vet)	0.5 ml/Kg i/m	Inmovilización / analgesia
Fentanilo/fluanisona (Hypnorm)	0.1 – 0.3 ml/Kg i/p	Sedación ligera, analgesia moderada
Ketamina	100 - 200 mg/Kg i/m	Sedación profunda, analgesia suave
Medetomidina	30 – 100 µg/Kg s/c	Sedación de ligera a intensa, algo de analgesia
Midazolam	5 mg/Kg i/m, i/p	Sedación de ligera a moderada
Xilacina	5 – 10 mg/Kg i/p	Sedación de ligera a intensa, algo de analgesia

Se produce una considerable variación en el efecto entre diferentes líneas (Fiecknell P., 1998).

1999
 1999
FALLA DE ORIGEN

ANEXO III
TABLA DE CONVERSIÓN DE PORCENTAJES EN UNIDADES DE PROBABILIDAD
(PROBIT)

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2,674	2,946	3,119	3,249	3,355	3,445	3,524	3,595	3,659
10	3,718	3,773	3,825	3,874	3,920	3,964	4,006	4,046	4,085	4,122
20	4,158	4,194	4,228	4,261	4,294	4,326	4,357	4,387	4,417	4,447
30	4,476	4,504	4,532	4,560	4,587	4,615	4,642	4,668	4,695	4,721
40	4,747	4,773	4,798	4,824	4,849	4,874	4,900	4,925	4,950	4,975
50	5,000	5,025	5,050	5,075	5,100	5,126	5,151	5,176	5,202	5,227
60	5,253	5,279	5,305	5,332	5,358	5,385	5,413	5,440	5,468	5,496
70	5,524	5,553	5,583	5,613	5,643	5,674	5,706	5,739	5,772	5,806
80	5,842	5,878	5,915	5,954	5,994	6,036	6,080	6,126	6,175	6,227
	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
90	6,282	6,287	6,293	6,299	6,305	6,311	6,317	6,323	6,329	6,335
91	6,341	6,347	6,353	6,359	6,366	6,372	6,379	6,385	6,392	6,398
92	6,405	6,412	6,419	6,426	6,433	6,440	6,447	6,454	6,461	6,468
93	6,476	6,483	6,491	6,498	6,506	6,514	6,522	6,530	6,538	6,546
94	6,555	6,563	6,572	6,580	6,587	6,596	6,607	6,616	6,626	6,635
95	6,645	6,655	6,665	6,675	6,685	6,695	6,706	6,717	6,728	6,739
96	6,751	6,762	6,774	6,787	6,799	6,812	6,845	6,836	6,852	6,866
97	6,881	6,896	6,911	6,927	6,943	6,960	6,971	6,995	7,014	7,033
98	7,054	7,075	7,097	7,120	7,144	7,170	7,197	7,226	7,257	7,290
99	7,326	7,366	7,409	7,457	7,512	7,576	7,662	7,748	7,878	8,090

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

BIBLIOGRAFIA:

- Adams H.R. "*Veterinary Pharmacology and Therapeutics*". Capítulo 12. 7ª Edición. Iowa State University Press. USA, 1995. pp. 209-273.
- Arras M., Autenried P., Rettich A., Spaeni D., Rülcke T. "*Optimization of Intraperitoneal Injection Anaesthesia in Mice: Drugs, Dosages, Adverse Effects, and Anesthesia Depth*". *Comparative Medicine by the American Association for Laboratory Animal Science*. Vol. 51, N° 5, Octubre 2001. pp. 443-456.
- Brown M.J., Pearson P.T., Tomson F.N. "*Guidelines for animal surgery in research and teaching*". *American Journal of Veterinary Research*. Vol. 54. N° 9, Septiembre 1993. pp. 1544-1559.
- Cabrera B.R., Mencías R.E., Fomeiro C.J. "*Toxicología de los Psicofármacos*". Mosby Year Book. Madrid, España. 1993. pp. 185-223.
- Craig R.C., Stitzel R.E. "*Modern Pharmacology with Clinical Applications*". 5ª Edición. Capítulo I. Little Brown and Company. USA, 1997. pp 3-11.
- Cunningham J.G. "*Textbook of Veterinary Physiology*" 3ª Edición. W.B.Sounders Company. Filadelfia, 2002. pp. 32-43.
- Ezquerro Calvo L. J., Vives Valles M.A., Usón Gargallo J. "*Anestesia Práctica de Pequeños Animales*". Capítulo XI. Interamericana McGraw Hill. España, 1992. pp. 193-212.
- *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos*, FEUM 7ª Edición, Secretaría de Salud. Tomo II. México 2000. pp. 1889-1898.
- Flecknell P.A. "*Anestesia de Animales de Laboratorio. Introducción Práctica para Investigadores y Técnicos*". Capítulos I, II y III. Editorial Acrbia, S.A. España, 1998. pp. 1-73.
- García C. R., Hernández V. R. J. "*Manejo de los Animales de Laboratorio en el Bioterio de la Unidad de Investigación en salud Infantil del Instituto Nacional de Pediatría*". FMVZ, UNAM. 1994. pp. 30-43.
- Gómez A.E., Naranjo E.B., Bustamante R. "*Manual para el uso y manejo de animales de laboratorio. Rata y ratón*". Facultad de Química, 2001. pp. 20-25.

- Gonzalo J.M., Avila I., San Ramón F., Orden A., Sánchez- Valverde M.A. "*Cirugía Veterinaria*". Capítulos 39,40 y 49. Interamericana McGraw-Hill. España, 1994. pp. 445-481, 605-619.
- Goodman & Gilman. "*Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*". Tomo I. Capítulos XIII y XIV. 9ª Edición. McGraw Hill Interamericana. 1996. pp.313-351.
- Goth W., Clark G., Craig B. "*Farmacología Médica*". 13ª Edición. Mosby. España, 1993.
- Green C.J. "*Animal Anaesthesia*". Capítulos III y VII. Laboratory animal Handbooks. Londres, 1979. pp. 23-27, 53-84.
- Harkness John E., Wagner Joseph E. "*The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents*". Capítulo II. Williams and Wilkins. USA, 1995. pp. 58-65, 81, 92-93.
- Hawk C.T., Leary L. S. "*Formulary for Laboratory Animals*". 2ª Edición. Iowa State University Press/AMES. USA, 1999.
- Hrapkiewicz K., Medina L., Colmes D.D. "*Clinical Laboratory Animal Medicine. An Introduction*". Capítulo I. 2ª Edición. Editorial Iowa State University Press. USA, 1998. pp. 3-31.
- Higgins Guerra L. "*Cronohistoriografía de la anestesiología*". Anestesiología Mexicana en Internet. México, 2000.
- Hilbery A.D.R. "*Manual de Anestesia de los Pequeños Animales*". Capítulos II y VI. Editorial Acribia S.A. España, 1992. pp. 9-16, 45-49.
- Kenkel J.L. "Introductory Statistics for Management and Economics". Capítulo XXI. 4ª Edición. Duxbury Press. USA, 1996. pp. 901-944, 1056-1057.
- Katzung B.G. "*Farmacología Básica y Clínica*". Capítulo XXV. 8ª Edición. Manual Moderno. México, 2002. pp. 447-494.
- Laber-Laird K., Swindle M.M., Flecknell P. "*Handbook of Rodent and Rabbit Medicine*". Capítulo I y VII. 1ª Edición. Pergamon. Gran Bretaña, 1996. pp. 1-38, 219-237.
- Litter M. "*Farmacología Experimental y Clínica*". Sección II, Capítulo III. 7ª Edición. El Ateneo. Argentina, 1986. pp. 38-68.

- Marques de Cantú M. J. *"Probabilidad y Estadística para Ciencias Químico – Biológicas"*. Capítulo VI, IX y XI. McGraw Hill. México, 1991. pp. 154-155, 231-307, 361-413.
- Morgan G.E, Mikhail M.S. *"Anestesiología Clínica"*. 1ª Edición. El Manual Moderno. México, 1995. pp. 3-16.
- Muir W., Hubbell J., Skarda R. *"Manual de Anestesia Veterinaria"*. Capítulo XXIX. 3ª Edición. Mosby. España, 2001. pp. 372-408.
- Nature. *"La luz artificial y estímulos no luminosos modifican los ciclos circadianos"*. 379:540-545(febrero8),1996.
- Norma Oficial Mexicana NOM-170-SSA1-1998, *Para la práctica de anestesiología*. Secretaría de Salud. México, 1998.
- Plumb D. *"Veterinary Drug Handbook"*. 4ª Edición. Iowa State Press. USA, 2002. pp. 644-648.
- Ramsay E, Wetzel W. *"Comparison of five regimens for oral administration of medication to induce sedation in dogs prior to euthanasia"*. Journal of the American Veterinary Medical Association. Vol 213 (1998), pp. 240-242.
- Ruesga Z. E., Estrada G. J. *"Cronobiología. Su aplicación en Cardiología"*. Revista Mexicana de Cardiología. Vol. 10, N°4, Octubre-Diciembre, 1999. pp. 143-145.
- Sanford J., Ewbank R., Molony V., Tavemor W.D. *"Guidelines for the recognition and assessment of pain in animals"*. The Veterinary Record. Vol. 118, March 1986. pp. 334-338.
- Seymour C., Gleed R. *"Manual of Small Animal Anaesthesia and Analgesia"*. Capítulos I, VIII, XXVIII. British Small Animal Veterinary Association BSAVA. 1999. pp. 87-90, 295-304.
- Sumano H., Ocampo L. *"Farmacología Veterinaria"*. 2ª Edición. Mc Graw Hill Interamericana. México, 1997. pp. 1-8,349-356, 393-395.
- Smith C.M., Reynard A.M. *"Farmacología"*. 1a Edición. Panamericana. México, 1993. pp. 27-39.
- Soma Lawrence R. *"Textbook of Veterinary Anesthesia"*. Capítulo XXVI. The Williams & Wilkins Company. Baltimore, 1971. pp. 369-384.

Bibliografía

- Tortora G., Anagnostakos N. "*Principios de Anatomía y Fisiología*". 5ª Edición. HARLA. Nueva Cork, 1989. pp. 318-497.
- William V. L., Wynn E.J. "*Veterinary Anesthesia*". Capítulos IX y XII. Lea & Febiger. Philadelphia.1984. pp. 199-211, 279-305.

Internet

- www.el-mundo.es/salud/1998. "Cronoterapia"
- www.fda.gov
- www.rxlist.com
- www.redveterinaria.com/cyber/pentobarbital.php.