



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

“DETERMINACIÓN DEL MARGEN DE SEGURIDAD E ÍNDICE
TERAPÉUTICO DEL 2,2,2-TRIBROMOETANOL EN RATA
(*Rattus Norvegicus*) Y RATÓN (*Mus musculus*),
ADMINISTRADO POR VÍA INTRAPERITONEAL”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A :

ERIKA EDITH NUÑEZ FERREIRA



MÉXICO, D.F.

2008



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

JURADO ASIGNADO

PROFESORES

Presidente

Prof. Ana María Vázquez Álvarez

Vocal

Prof. Elia Brosla Naranjo Rodríguez

Secretario

Prof. Ruth Bustamante García

1º. Suplente

Prof. Martha Leticia Jiménez Pardo

2º. Suplente

Prof. María Eva González Trujano

Sitio donde se desarrolló el tema:

Bioterio 5º. Piso Edificio "A". Facultad de Química. UNAM

Asesor del Tema



M. en C. Ruth Bustamante García

Supervisor Técnico



M.V.Z. Atonatiu/Edmundo Gómez Martínez

Sustentante



Erika Edith Nuñez Ferreira

Dedico este trabajo a la mujer de mi vida,
mi madre: Edith A. Ferreira Hernández.

GRACIAS:

A mi mamá, un ejemplo de lucha y fortaleza y a mis hermanos (Saine, Román y Adriana) por estar allí siempre. A mi abuela, Carmen Hndz., pues gracias a ella sé quien quiero ser ahora y quien no deseo ser en el futuro y a mi familia en general por el apoyo brindado durante toda mi carrera, principalmente a mis tías (María de la Luz, Alicia, Rocío y Sandra) y a mis primitos (Uriel y Erick).

Mil gracias al Doc Atonatiu Gómez que me dio asilo político en el bioterio, por el apoyo y todas las facilidades que me brindó para terminar tanto la parte experimental como la parte escrita de este trabajo. Gracias por las lecciones de vida que me ha dado, cuando crezca quiero ser como ud.

Un especial agradecimiento a mi súper asesora Ruth Bustamante pues gracias a su guía y consejos he terminado este trabajo más rápido de lo que imaginé, quien además de ser mi profesora me ha demostrado ser una buena amiga.

A mis muy y más mejores amigas Myrna y Wendy que siempre me han apoyado en mis mil y un locuras, que siempre estuvieron allí cuando más las necesitaba y también cuando no, además de ayudarme en gran parte de mis peripecias con los animales utilizados para mis experimentos (Myrna a pesar de haber sido agredida por un ratón y Wen a pesar del asco que les profesaba – ahora ya no-); gracias Luis por las divertidísimas tardes o mañanas de desorganización y por todo el tiempo compartido; también gracias Silvia por haber hecho acto de presencia en mi época de universitaria; con estos cuates y muchos otros que no olvido, mi vida en la facultad nunca fue aburrida.

Muchas gracias también a todas las personas que han compartido conmigo su tiempo y espacio. A muchos de los profesores que no sólo compartieron su conocimiento académico conmigo, sino que se convirtieron en una parte importante de mi familia (Magdalena Acosta, Pilar Ortega, Ramíro Domínguez, etc.).

También debo agradecer a las personas que no llegaron hasta este punto de mi vida, para compartir conmigo este logro, en especial a quien me enseñó que vale la pena sentir la vida a pesar de todo, a aceptar lo que no se puede cambiar y luchar por lo que realmente vale la pena.

ÍNDICE

CONTENIDO	PÁGINA
Lista de Abreviaturas	6
Lista de Figuras	7
Lista de Tablas	8
Capítulo 1	
INTRODUCCIÓN	9
Capítulo 2	
ANTECEDENTES	10
2.1 Anestesia	10
2.1.1 Historia	10
2.1.2 Definición	12
2.1.3 Tipos de anestesia	12
2.1.3.1 Anestesia General	13
2.1.3.1.1 Etapas de la anestesia	13
2.1.4 Cuidados pre-operatorios	15
2.1.5 Equipo anestésico, fármacos anestésicos y personal	16
2.1.6 Sujeto de Experimentación (Roedores)	16
2.1.7 Medicación pre-anestésica	18
2.2 Anestésicos Generales	21
2.2.1 Inhalados	21
2.2.2 Inyectables	22
2.2.2.1. Anestésico 2,2,2-Tribromoetanol	23
2.2.2.1.1 Propiedades Farmacológicas	24
2.2.2.1.2 Acción y usos	26
2.2.2.1.3 Farmacocinética	26
2.3 Animales utilizados en la experimentación	27
2.3.1 Rata (<i>Rattus norvegicus</i>)	27

2.3.1.1 Características Biológicas y Fisiológicas	28
2.3.1.2 Anestesia en la rata	29
2.3.2 Ratón (<i>Mus musculus</i>)	29
2.3.2.1 Características Biológicas y Fisiológicas	30
2.3.2.2 Anestesia en el ratón	31
2.4 Curva Dosis Respuesta Cuantal	32
2.4.1 Relación cuantal	33
2.5 Factores que modifican la Respuesta Farmacológica	36
2.5.1 Género	37
2.5.2 Relojes Biológicos	38
2.5.2.1 Reloj Interno	38
2.5.2.2 Clasificación de Ritmos	39
Capítulo 3	
OBJETIVOS	40
3.1 Objetivo General	40
3.2 Objetivo Particular	40
Capítulo 4	
HIPÓTESIS	41
Capítulo 5	
MATERIAL Y MÉTODO	42
5.1 Material y Métodos	42
5.1.1 Material	42
5.2 Procedimiento Experimental	43
5.3 Diagrama de flujo	45
Capítulo 6	
RESULTADOS	46
Capítulo 7	
ANÁLISIS DE RESULTADOS	52
Capítulo 8	
CONCLUSIONES	56

ANEXOS

Anexo 1. Resultados de Probabilidad después de realizar la ANADEVA de una sola vía para Rata, Ratón y la interacción Rata-Ratón.	57
Anexo 2. Unidades de Probabilidad	58
Anexo 3. Comparación Estructura Actividad TBE vs. TCA	59
Anexo 4. Resultados de los datos farmacológicos	61
Capítulo 9	
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62

Lista de Abreviaturas

% K	Porcentaje de Respuesta
°C	grados centígrados
AM	Antes meridiano o turno matutino de administración
ANADEVA	Análisis de Varianza
β_1	Receptor adrenérgico beta tipo 1
CDRC	Curva Dosis Respuesta Cuantal
CFW	cepa no consanguínea
CG	Cromatografía de Gases
DE ₅₀	Dosis efectiva 50
DE _K o K	Dosis Efectiva K
DL ₅₀	Dosis Letal 50
DT ₅₀	Dosis Tóxica 50
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
FLUKA	Fluktuierende Kaskade
G	Gramos
GABA	ácido gama amino butírico
GABA _A	Receptor al ácido gama amino butírico tipo A
H	Hipnosis
i/m	Intramuscular
i/p	Intraperitoneal
IT	Índice Terapéutico
M	Muerte
mg/Kg	miligramos por kilogramo
mL	Mililitros
MS	Margen de Seguridad
PM	Pasado meridiano o turno vespertino de administración
Probit o U.P.	Unidades de probabilidad
PS	Pentobarbital sódico
puls/min	pulsaciones por minuto
resp/min	respiración por minuto
SNC	Sistema Nervioso Central
SPF	Animales libres de patógenos Específicos
TBE	Tribromoetanol
TCA	Hidrato del Cloral
TCE	Tricloroetanol
Vs	Versus

* Siglas en inglés

** Abreviatura del nombre químico

Lista de figuras

No. de figura	página
Figura 1. Estructura química del 2,2,2-Tribromoetanol	23
Figura 2. Espectro de masas del 2,2,2-Tribromoetanol	23
Figura 3. Relación concentración logarítmica-efecto	32
Figura 4. Curvas de Distribución de Frecuencia	34
Figura 5. Curvas de dosis-efecto de todo o nada	35
Figura 6. CURVA DOSIS RESPUESTA CUANTAL. Unidades Probits vs. Log Dosis del 2, 2, 2-Tribromoetanol administrado vía i/p en ratón macho.	47
Figura 7. CURVA DOSIS RESPUESTA CUANTAL. Unidades Probits vs. Log Dosis del 2, 2, 2-Tribromoetanol administrado vía i/p a las 9:00 h en ratón hembra.	48
Figura 8. CURVA DOSIS RESPUESTA CUANTAL. Unidades Probits vs. Log Dosis del 2, 2, 2-Tribromoetanol administrado vía i/p a las 16:00 h en ratón hembra.	48
Figura 9. CURVA DOSIS RESPUESTA CUANTAL. Unidades Probits vs. Log Dosis del 2, 2, 2-Tribromoetanol administrado vía i/p a las 9:00 h en rata macho.	49
Figura 10. CURVA DOSIS RESPUESTA CUANTAL. Unidades Probits vs. Log Dosis del 2, 2, 2-Tribromoetanol administrado vía i/p a las 16:00 h en rata macho.	50
Figura 11. CURVA DOSIS RESPUESTA CUANTAL. Unidades Probits vs. Log Dosis del 2, 2, 2-Tribromoetanol administrado vía i/p a las 9:00 h en rata hembra.	51
Figura 12. CURVA DOSIS RESPUESTA CUANTAL. Unidades Probits vs. Log Dosis del 2, 2, 2-Tribromoetanol administrado vía i/p a las 16:00 h en rata hembra.	51
Figura 13. Estructura química del Hidrato de cloral.	59

Lista de Tablas

No. de tabla	Página
Tabla 1. Fármacos utilizados en la medicación pre-anestésica	20
Tabla 2. Composición del 2,2,2-Tribromoetanol.	23
Tabla 3. Datos biológicos y reproductivos de la rata.	28
Tabla 4. Dosis recomendada del 2,2,2-Tribromoetanol en rata.	29
Tabla 5. Datos biológicos y reproductivos del ratón	30
Tabla 6. Dosis recomendada de 2,2,2-Tribromoetanol en ratón.	31
Tabla 7. Agrupación de especímenes por concentración correspondiente.	44
Tabla 8. Resultados de la administración de 2,2,2-Tribromoetanol en ratón macho vía i/p a las 9:00 y 16:00 h.	46
Tabla 9. Resultados de la administración de 2,2,2-Tribromoetanol en ratón hembra vía i/p a las 9:00 y 16:00 h.	47
Tabla 10. Resultados de la administración de 2,2,2-Tribromoetanol en rata macho vía i/p a las 9:00 y 16:00 h.	49
Tabla 11. Resultados de la administración de 2,2,2-Tribromoetanol en rata hembra vía i/p a las 9:00 y 16:00 h.	50
Tabla 12. Resultados Estadísticos de probabilidad.	57
Tabla 13. Tabla de conversión de porcentajes en unidades de probabilidad (PROBIT).	58
Tabla 14. Relación Estructura Actividad del 2,2,2-Tribromoetanol con el Hidrato de cloral.	59
Tabla 15. Resumen de los datos.	61

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El uso de anestésicos en el área experimental biomédica es de suma importancia debido a que puede ser un factor de riesgo en el proceso de investigación, de ahí la necesidad en la búsqueda de nuevas sustancias que puedan ser aplicadas como anestésicos con Margen de Seguridad (MS) e Índice Terapéutico (IT) adecuados para éste fin. Así mismo que el costo/beneficio sea menor al que se tiene con los anestésicos actualmente administrados.

Por lo que el presente trabajo esta encaminado a determinar parámetros como las dosis efectiva, letal y MS en las especies *Mus musculus* y *Rattus norvegicus* que son más utilizadas en la experimentación biomédica. (Gómez, 2001)

En el trabajo continuo y cotidiano del uso de animales en el laboratorio, las técnicas anestésicas es un aspecto esencial del refinamiento de los métodos experimentales y el uso de un anestésico incorrecto puede ocasionar efectos adversos sobre la calidad de los resultados que se van a obtener durante el transcurso de cualquier proyecto de investigación con animales e inclusive la muerte del mismo; además es necesario resaltar que en nuestro país se siguen utilizando fármacos anestésicos que no son específicos para roedores. Por lo cual consideramos que al establecer los parámetros farmacológicos antes expuestos del 2, 2, 2-tribromoetanol como anestésico, podemos concluir si es factible su uso en estas dos especies. (Flecknell, 1998)

Así mismo contemplamos en este proyecto algunas otras variables que pudiesen afectar la acción de dicho anestésico como el ritmo circadiano y el sexo de los animales, esto con la finalidad de proporcionar un informe mucho más completo de un anestésico que puede ser viable en las prácticas de experimentación biomédica.

CAPÍTULO II

ANTECEDENTES

2.1 ANESTESIA

2.1.1 HISTORIA

Se tiene registro del uso de preparaciones a base de plantas desde tiempos inmemoriales para mitigar o inhibir el dolor; éstas prácticas anestésicas han madurado a través del tiempo, sin embargo, la evolución de la anestesia se inició a mediados del siglo XIX, y no se estableció con firmeza sino hasta hace apenas algunas décadas (Morgan, 1995).

Antes de 1846 los procedimientos quirúrgicos no eran tan comunes como lo son ahora debido a los conocimientos rudimentarios sobre la fisiopatología de la enfermedad, así como la razón para su tratamiento quirúrgico. La técnica aséptica y la prevención de la infección de las heridas eran casi desconocidas. Además, la ausencia de una anestesia satisfactoria era un obstáculo importante (Goodman & Gilman, 2006).

Existían algunos medios para intentar aliviar el dolor quirúrgico utilizando sustancias como el alcohol, el hashnish y los derivados del opio. También, inducían la inconciencia del individuo a través de traumatismos en la cabeza o el estrangulamiento, lo que hacía muy poco atractivos los procedimientos quirúrgicos (Goodman & Gilman, 2006).

A pesar de conocer las propiedades analgésicas del óxido nitroso y el éter dietílico, alrededor de 1776, éstos agentes no se utilizaron con propósitos médicos sino hasta mediados del siglo XIX (Goodman & Gilman, 2006).

La anestesia se introdujo hasta la década de 1840, cuando hubo una preocupación por el bienestar del prójimo, una actitud humanitaria, también, es cierto que en esos momentos la química y la medicina habían avanzado simultáneamente hasta el grado en que podía prepararse una droga puramente química y usarla luego con cierto grado de seguridad. También, había crecido el

espíritu inquisitivo: la búsqueda de la mejoría de la condición humana (Goodman & Gilman, 2006).

En 1845 el doctor Wells intentó introducir el óxido nitroso como anestésico con un rotundo fracaso. En 1846 el doctor W. Morton hizo una demostración pública exitosa de la anestesia con éter.

En 1903 comienza a utilizarse el tribromoetanol (TBE) como anestésico rectal (Soma, 1971).

En 1929 se descubren las propiedades anestésicas del ciclopropano y se utiliza durante los siguientes 30 años a pesar del existente riesgo de explosión; esto aumenta la necesidad de encontrar otros anestésicos, por lo que redoblan sus esfuerzos en la búsqueda de nuevas opciones y es así como aparece el halotano en escena en 1956, el cual es el modelo de muchos de los anestésicos modernos (hidrocarburos y éteres halogenados) (Goodman & Gilman, 2006).

En 1935 Lundy demostró la utilidad clínica del tiopental, un tiobarbitúrico de rápida acción, de allí vinieron los siguientes anestésicos pertenecientes al grupo de los barbitúricos. Los anestesistas también fijaron su atención en las propiedades del curare y éste se utilizó por algunos años a principios del siglo XX. (Goodman & Gilman, 2006).

En la actualidad se utilizan combinaciones de fármacos para inducir a una anestesia con mayor eficacia. Sin embargo, aún se sigue en la búsqueda de nuevos anestésicos, eficaces y seguros.

A principios de la década de 1990 las prácticas anestésicas se concretan ya como una especialidad -“Anestesiología Médica”- cuando unos pocos médicos comenzaron a dedicar toda su atención a la administración clínica de los anestésicos (Adams, 2001).

2.1.2 DEFINICIÓN DE ANESTESIA

La palabra *anestesia* deriva del griego $\alpha\nu\alpha\iota\sigma\theta\eta\sigma\iota\alpha$; que significa $\alpha\nu$: privación, y $\alpha\iota\sigma\theta\eta\sigma\iota\alpha$: sentido, sentimiento; privación de la sensibilidad, insensible o sin sensación.

La palabra no implica necesariamente la pérdida de la conciencia. En el campo de la anestesiología, la anestesia y los anestésicos son utilizados por una amplia variedad de razones (Adams, 2001). Por lo que podemos definir a la anestesia como un conjunto de procedimientos y técnicas que nos permiten la eliminación de sensibilidad a los estímulos dolorosos, en algunas maniobras diagnósticas o en diversas acciones terapéuticas e incluso, excepcionalmente en la eutanasia. (Gonzalo, 1994)

2.1.3 TIPOS DE ANESTESIA (Adams, 2001)

Podemos dividir los tipos de anestesia basándonos en la magnitud de la pérdida de sensación en dos grandes grupos:

- Regional/local: fármacos en la proximidad de membranas nerviosas que producen bloqueo de la conducción. (Adams, 2001)
 - Local
 - a. Por infiltración
 - b. Aplicación superficial
 - c. Por bloqueo de una rama nerviosa en forma lineal
 - Regional
 - a. Paravertebral
 - b. Epidural
 - c. Intratecal
- Anestesia general: estado controlado de depresión reversible del SNC (incluida la inconciencia) producida por uno o múltiples fármacos. (Adams, 2001)

Según su vía de administración:

- Inyectable
 - a. Intravenosa
 - b. Subcutánea
 - c. Intramuscular
 - d. Intraperitoneal
 - e. Intraósea
- Sistema gastrointestinal
 - f. Oral
 - g. Rectal
- Sistema respiratorio (inhalatoria)
- Anestesia disociativa

La anestesia general de tipo parenteral (vía intraperitoneal) fue la empleada durante la etapa experimental de este proyecto por los requerimientos del fármaco.

2.1.3.1 ANESTESIA GENERAL

La anestesia general es un estado inducido por medios farmacológicos u otros, lo que da por resultado una depresión controlada y reversible del Sistema Nervioso Central (SNC) (Adams, 2001). El estado fisiológico de anestesia general suele incluir analgesia, amnesia, pérdida de la conciencia, inhibición de reflejos sensitivos y autónomos y relajación de músculos esqueléticos. El grado al que cualquier anestésico inhibidor puede ejercer estos efectos varía según la sustancia, la dosis y circunstancias clínicas. (Katzung, 2005)

Los anestésicos generales suelen administrarse por inhalación o por inyección intravenosa. (Katzung, 2005)

2.1.3.1.1 ETAPAS DE LA ANESTESIA

Con la progresiva profundización de la anestesia quirúrgica aparecen disminuciones paralelas en la ventilación e integridad circulatoria. La muerte por

sobredosis de anestésicos potentes ocurre por parálisis medular y paro circulatorio en ausencia de hipoxia. Se pueden producir los siguientes efectos, de forma dependiente a la dosis:

1. Menor presión sanguínea causada por vasodilatación periférica o reducción directa de la contractilidad cardíaca o ambas.
2. Menor ventilación alveolar minuto debido al volumen corriente final reducido. (La ventilación se hace más dependiente del diafragma al profundizarse la anestesia).
3. Constricción y centrado de las pupilas con niveles medios de anestesia quirúrgica, que precede a la dilatación pupilar con aparición de anestesia profunda. (Se observa un aumento del lagrimeo con niveles ligeros de anestesia quirúrgica, pero los ojos están secos durante la anestesia profunda).

(Goth, 1990)

Los cambios progresivos resultantes de la administración de fármacos anestésicos se clasifican en cuatro etapas (Ganong, 1984):

ETAPA I: analgesia

Se caracteriza por la inducción de un estado de analgesia ligero no apto para la cirugía (Sumano, 2006), ya que la sensación dolorosa persiste. 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 (Ganong, 1984).

ETAPA II: de excitación

Se inicia al perderse la conciencia por acción del anestésico sobre la posición cortical (Sumano, 2006).

Durante esta etapa, con frecuencia el individuo parece estar delirante y excitado, pero definitivamente se encuentra amnésico. La respiración es irregular tanto en volumen como en frecuencia, y puede presentarse náuseas y vómito

(Katzung, 2005). Este estado dura desde la pérdida de la conciencia hasta el establecimiento de un patrón regular de respiración. (Ganong, 1984)

ETAPA III: anestesia quirúrgica

Se caracteriza por inconciencia con pérdida progresiva de los reflejos. Se acentúa la relajación muscular por la acción sobre los centros espinales, y la respiración se torna más lenta y regular. Los reflejos deglutorio y emético se pierden. (Sumano, 2006)

ETAPA IV: depresión medular

Esta etapa incluye la depresión grave del centro vasomotor en la médula espinal y del centro respiratorio (Katzung, 2005). El corazón continúa latiendo sólo por un corto periodo. Las mucosas están pálidas y las pupilas dilatadas. Los esfínteres urinario y anal se relajan. Sin el apoyo circulatorio y respiratorio completo, rápidamente sobreviene la muerte. (Ganong, 1984)

Los cuatro planos de la teoría clásica no siempre se observan con todos los anestésicos, puede deberse a que el tiempo entre las etapas es corto, y muchos signos poco aparentes son a menudo inadvertidos. (Katzung, 2005)

2.1.4 CUIDADOS PRE-OPERATORIOS

Para proporcionar una anestesia de calidad, en los modernos laboratorios de investigación, es esencial realizar procedimientos pre-operatorios adecuados antes de intentar anestesiarse a un animal. Unos buenos cuidados pre-operatorios reducirán la incidencia de muchas de las complicaciones que pueden ocurrir durante la anestesia (apnea, hipertaxia, muerte) (Flecknell, 1998), es indispensable asegurarse que los animales a someter al procedimiento anestésico se encuentren en perfectas condiciones sanitarias y libres de procesos subclínicos. (Cruz, 1994)

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

2.1.5 EQUIPO ANESTÉSICO, FÁRMACOS ANESTÉSICOS Y PERSONAL

Luego de precisar el protocolo anestésico, es necesario verificar:

- La disposición del equipo preciso y de su óptimo funcionamiento.
- Que se tienen la cantidad de fármacos suficiente y gases anestésicos no sólo para el tiempo de anestesia previsto, sino para atender los posibles imprevistos.
- Revisar 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.
- Permitir que el equipo de monitorización se estabilice una vez encendido, y comprobar sus funciones.
- Reajustar los límites de alarma antes y después de que se haya conectado el animal.
- Destinar un espacio adecuado para la recuperación pos-operatoria del animal.
- Comprobar que todo aquel que vaya a participar en el procedimiento se encuentre familiarizado con el método experimental, el equipo y las técnicas a utilizar.

(Flecknell, 1998)

2.1.6 SUJETO DE EXPERIMENTACIÓN (Roedores)

El factor individual más importante que puede reducir los riesgos asociados con la anestesia es el uso de animales sanos o con un nivel de salud definido

como SPF (Libres de patógenos específicos), gnotobióticos, etc., de modo que se pueda:

- Eliminar la incidencia de enfermedades respiratorias o de otro tipo.
- Disminuir la morbilidad y la mortalidad de animales que puedan padecer enfermedades concomitantes.
- Controlar la variabilidad en los datos de la investigación por utilizar animales enfermos. (Flecknell, 1998)

A. Aclimatación

Los animales deben obtenerse al menos una semana y, preferiblemente 14 días, antes de su uso, para dejar un período de tiempo apropiado para la aclimatación al nuevo ambiente. (Flecknell, 1998)

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, así como de los investigadores, tendrán 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 (signos que demostrarán que el animal se encuentra en un estado fisiológico normal). (Flecknell, 1998)

B. Exploración Clínica

Es necesario que la valoración se lleve a cabo por personal experto en la especie en cuestión, para que sea capaz de detectar algunos síntomas como la presencia de descargas nasales u oculares, el oscurecimiento de la piel alrededor de estas regiones o la aparición de manchas de heces en la región perianal que hacen precisa una investigación más detallada. Es de ayuda monitorear la ingesta de agua y alimento, así como el peso corporal. Esto permitirá valorar si la ingesta es normal, siendo de utilidad en la monitorización de la recuperación del animal tras la operación. (Flecknell, 1998)

C. Ayuno pre-operatorio

El ayuno pre-anestésico se recomienda en ciertas especies, sin embargo es innecesario pequeños roedores, puesto que en esta especie no se produce vómito durante la inducción de la anestesia.

A todos los animales se les debe proporcionar agua de bebida hasta aproximadamente 60 minutos antes de la inducción de la anestesia. 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, 1998)

2.1.7 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 rápida y eficiente.
- Proporcionar una recuperación con menos efectos colaterales o efectos indeseables.
- 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 y que puede producirse a causa de la intubación endotraqueal y de maniobras quirúrgicas).
- Reducir el dolor antes e inmediatamente después de la operación.

(Flecknell, 1998)

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 relajación son necesarias para ayudar a la contención y minimizar el riesgo de que sufran daños el animal o la persona que lo manipula. (Flecknell, 1998)

Junto con el uso de fármacos, la manipulación experta y cuidadosa de los animales de laboratorio es una 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 anestesiar, los agentes anestésicos a utilizar, los requerimientos particulares del experimento y las preferencias personales del anestesista. (Flecknell, 1998)

A continuación se listan algunos de los principales fármacos utilizados en la medicación pre-anestésica y ejemplos específicos de fármacos. (Tabla 1).

Tabla 1. Fármacos utilizados en la medicación pre-anestésica y anestésica.
(Adams, 2001)

Medicación pre-anestésica		
Agonistas α -adrenérgicos	<ul style="list-style-type: none"> a. Xilazina b. Detomidina c. Medetomidina 	
Tranquilizantes – sedantes	<ul style="list-style-type: none"> a. Acepromazina b. Diazepam c. Midazolam d. Droperidol e. Azaperona 	
Combinaciones de fármacos sedantes preparados comercialmente	<ul style="list-style-type: none"> a. Telazol (tiletamina + zolazepam) b. Innovar-neuroleptoanalgesia (fentanilo + droperidol) 	
Parasimpaticolíticos	<ul style="list-style-type: none"> a. Atropina b. Glucopirrolato 	
Medicación anestésica		
Hipnóticos – sedantes	<ul style="list-style-type: none"> a. Pentobarbital b. Hidrato de cloral 	
Disociativos	<ul style="list-style-type: none"> a. Ketamina 	
Opioides	a. Agonistas	<ul style="list-style-type: none"> i. Morfina ii. Meperidina
	b. Agonistas-antagonistas	<ul style="list-style-type: none"> ii. Butorfanol

En la parte experimental de este trabajo no fue necesario el uso de medicación pre-anestésica debido a que los animales utilizados (rata y ratón) son pequeños, de fácil manipulación y escasamente se requiere sedación previa.

2.2 ANESTÉSICOS GENERALES

Básicamente podemos dividir a los anestésicos generales en 2 dependiendo de su vía de administración:

- Anestésicos inhalados
- Anestésicos parenterales o inyectables

2.2.1 Anestésicos Inhalados

En este apartado se incluyen los agentes anestésicos volátiles que se administran al paciente a través del tracto respiratorio, como los gases o fármacos con punto de ebullición muy bajo. La concentración de anestésico que puede administrarse al animal está influenciada por el punto de ebullición del fármaco. Cuanto más bajo sea el punto de ebullición de un anestésico, más fácil será que se evapore y, por tanto, más alta la concentración que puede administrarse (Flecknell, 1998). El problema con este tipo de anestésicos es su bajo margen de seguridad (menor a 10), además, regularmente poseen un índice terapéutico dentro de un rango de 2 a 4, lo que los hace peligrosos para su uso clínico. (Goodman & Gilman, 2006)

A continuación se enlistan algunos agentes específicos:

- Éter
- Halotano
- Enflurano
- Isoflurano
- Metoxiflurano
- Óxido Nitroso

2.2.2 Anestésicos Inyectables

Los agentes anestésicos inyectables pueden administrarse por varias vías (intraperitoneal, intramuscular e intravenosa). La vía intravenosa es la preferida, ya que la acción es más rápida, sin embargo depende de la naturaleza del fármaco, la condición del animal y la habilidad del personal que administre el anestésico. La administración vía intramuscular, intraperitoneal o subcutánea es relativamente directa en la mayoría de las especies, pero la velocidad de absorción del fármaco y, por tanto, sus efectos anestésicos, pueden variar considerablemente. (Flecknell, 1998)

Como fármacos disponibles tenemos:

- a. Barbitúricos
 - * Pentobarbital
 - * Tiopental
 - * Metohexital
 - * Inactina
- b. Agentes anestésicos esteroideos
 - * Alfaxalona/alfadolona
- c. Agentes anestésicos disociativos
 - * Ketamina
- d. Combinaciones neuroleptoanalgésicas
 - * Fentanilo/fluanisona, fentanilo/droperidol, etorfina/metotrimepricina, etorfina/acepromacina
- e. Otras combinaciones opioides
 - * Fentanilo/medetomidina
 - * Etomidato y metomidato
- f. Otros agentes anestésicos
 - * Propofol
 - * Tribromoetanol
 - * Hidrato de cloral
 - * Uretano

Mi particular interés recae en el 2,2,2-Tribromoetanol, ya que es el anestésico que se evalúa en este trabajo experimental.

2.2.2.1 ANESTÉSICO 2,2,2-Tribromoetanol

NOMBRE QUÍMICO:

2, 2, 2-tribromoetanol

ESTRUCTURA QUÍMICA:

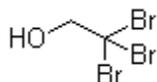
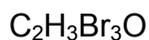


Figura 1. Estructura química del 2,2,2-Tribromoetanol.
www.chemexper.com

FÓRMULA EMPÍRICA:



PESO MOLECULAR:

$$282.78 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$$

ESPECTRO DE MASAS:

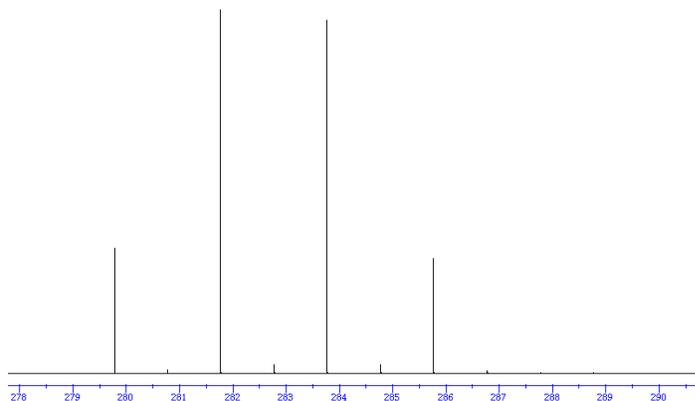


Tabla 2. Composición del 2,2,2-Tribromoetanol

Elemento	Número	Porcentaje
C	2	8.495627
H	3	1.069405
Br	3	84.776615
O	1	5.658352

www.chemexper.com

Figura 2. Espectro de masas del 2,2,2-Tribromoetanol

www.chemexper.com

SINÓNIMOS:

β -Tribromoetanol; 2,2,2-Tribromoetanol; 2,2,2- Alcohol tribromoetilico; Avertin; Basibrol; Bromethol; Ethobrom; Ethobrome; NSC 2189; Narcolan; Narcotyl; Narkolan; Rectanol; Tribromoetanol. (Martindale, 1973)

QUÍMICA:

El TBE es un polvo blanco cristalino, incoloro o blanco de olor característico, cuyo punto de fusión es de 79-82°C es muy poco soluble en agua; es soluble en alcohol, éter, benceno y es muy soluble en hidrato de amileno. (Lewis, 2001)

Las soluciones acuosas y alcohólicas deben ser protegidas de la luz y almacenadas a 4 °C. Cuando las soluciones de TBE son mal almacenadas éste se descompone en ácido bromhídrico y dibromoacetaldehido, ambos productos son fuertemente irritantes. (Lieggi, 2005)

Ácido Bromhídrico (HBr)

La sustancia es corrosiva para los ojos, la piel y el tracto respiratorio. La inhalación del gas puede originar edema pulmonar. La evaporación rápida del líquido puede producir congelación.
(Lewis, 2001)

Dibromoacetaldehido

Es corrosivo y fuertemente irritante al contacto con tejido vivo.
(Lewis, 2001)

2.2.2.1.1 PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS:

El TBE en dosis anestésicas usuales, en humanos, causa hipotensión, esto raramente peligroso. Ocasionalmente, en el uso en pacientes hipotensos, la presión sanguínea presenta un descenso dramático. El anestésico completo causa parálisis respiratoria y depresión de la función cardiaca, por lo que debe administrarse diluido. Altas dosis del compuesto causan hepatotoxicidad. (Martindale, 1973)

Como se mencionó arriba éste fármaco se utilizaba en humanos, sin embargo cayó en desuso debido a:

1. La variabilidad de respuesta biológica observada.
2. Irritación rectal.
3. Un periodo prolongado de inducción cuando se utiliza como suplemento con anestésicos inhalados.
4. La alarmante depresión inmediata.
5. Efectos retardados.
6. Las numerosas contraindicaciones.
7. La imposibilidad de remover con eficiencia el agente tóxico una vez que se presenta.

(Martindale, 1973)

SNC: Uno de los sitios de acción de este fármaco es a nivel SNC. En algunos experimentos se ha observado que inhibe la sinapsis en las que la neurotransmisión es mediada por el GABA (ácido γ -amino butírico) que actúa en los receptores GABA_A β_1 (Krasowski, 2000); sin embargo, la acción vía esta inhibición es inespecífica, por lo tanto se presume hay otro camino de acción para efectuar el proceso anestésico, dicha vía aún se encuentra en proceso de investigación.

Difusión Transplacentaria: El TBE causa una depresión profunda sobre el feto. (Martindale, 1973)

Hígado: A nivel hepático se dice que el complejo enzimático mediado por el citocromo P₄₅₀ activa compuestos como éste induciendo la peroxidación lipídica que facilita la formación de radicales libres tumorigénicos propiciando el cáncer en los tejidos. (Chang, 1996)

Sistema Cardiovascular: A dosis hipnóticas puede causar una ligera hipotensión y bradicardia. A dosis superiores se manifiesta una depresión del sistema cardiovascular. (Goodman & Gilman, 2006)

En el caso de los animales, el TBE produce anestesia quirúrgica en ratas y ratones, con buena relajación muscular y sólo un grado moderado de depresión respiratoria. Da lugar a grave irritación y adherencia peritoneales tras su uso cuando se administran dosis altas y cuando se administra de manera crónica; también con el uso periódico de este anestésico el organismo del animal puede crear tolerancia. (Flecknell, 1998)

2.2.2.1.2 ACCIÓN Y USOS:

Es un anestésico basal que al administrarse vía rectal produce una rápida y placentera anestesia por alrededor de 1 ½ horas y amnesia por un periodo largo de tiempo. Produce anestesia quirúrgica en ratas y ratones. Se usó también para controlar estados asmáticos y ataques convulsivos en tétanos y en algunos casos agudos de eclampsia y en estados maniacos en humanos. (Martindale, 1973)

2.2.2.1.3 FARMACOCINÉTICA:

Las soluciones de TBE se absorben rápidamente por la mucosa rectal, en caso de ser administradas vía i/p se absorben por el peritoneo; el 50% de la dosis administrada es absorbida rápidamente dentro de los primeros 10 minutos luego de la administración. Este compuesto se conjuga con el ácido glucorónico en el hígado para ser eliminado, casi por completo en 2h, en la orina. (Martindale, 1973)

2.3 ANIMALES UTILIZADOS EN LA EXPERIMENTACIÓN

Los ratones y las ratas son animales dóciles al contacto humano, de fácil manejo y barato mantenimiento además de ser los modelos biológicos más utilizados en la investigación biomédica.

Ambas especies de roedores, el ratón (*Mus musculus*) y la rata (*Rattus norvegicus*), pertenecen al orden Rodentia, a la familia Muridae, y se encuentran agrupados en el suborden Myomorpha.

2.3.1 Rattus norvegicus

La cepa de ratas de laboratorio comúnmente usada en investigación es: *Rattus norvegicus*. Los adultos generalmente pesan entre 300 y 500 g, los machos son ligeramente más grandes que las hembras. La mayoría de las ratas de laboratorio son albinas con pelo blanco y ojos rosas (Hrapkiewicz, 1998). Las ratas utilizadas en este experimento son Wistar de cepa abierta.

2.3.1.1 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS Y FISIOLÓGICAS (Tabla 3).

Tabla 3. Datos biológicos y reproductivos de la rata (Harkness, 1999).

Género:	Rattus
Especie:	norvegicus
Familia:	Muridae
Orden:	Rodentia
Suborden:	Myomorpha
Peso corporal adulto:	
Macho	300 – 520g
Hembra	250 – 300g
Tiempo de vida:	2.5 – 3.5 años
Temperatura corporal:	35.9 °C – 37.5 °C
Frecuencia cardiaca:	250 – 450 pulsos/min
Frecuencia respiratoria:	70 – 115 reps/min
Consumo de comida:	5-6g / 100g / día
Consumo de agua:	10-12ml / 100g / día
Tipo de ciclo estral:	Poliéstrico continuo
Determinación de las fases del ciclo estral:	Frotis vaginal
Vida reproductiva hembra:	350 – 440 días
Duración del ciclo estral	4 – 5 días
Período de gestación:	21 – 23 días
Tamaño de la camada:	6 – 12 animales
Edad al destete:	21 días
Número de cromosomas (diploide):	42

2.3.1.2 ANESTESIA EN LA RATA

El pequeño tamaño corporal de la rata hace difícil la inyección intravenosa y los fármacos se administran normalmente vía i/p o i/m. Si se utilizan estas vías, no es posible administrar el fármaco gradualmente según el efecto y el anestésico debe darse como una dosis única y calculada. Debido a la amplia variación en la respuesta a los fármacos entre diferentes líneas de ratas, entre animales machos y hembras y entre individuos, es mejor usar un fármaco o combinación de fármacos que proporcione un amplio margen de seguridad. (Flecknell, 1998)

Existe una amplia variedad de anestésicos para estos roedores, incluyendo el 2, 2, 2-Tribromoetanol, que a pesar de tener un MS e IT bajos (< 4) puede utilizarse de manera confiable. A continuación se enumeran las dosis recomendadas por algunos autores.

Tabla 4. Dosis recomendada de 2,2,2-Tribromoetanol en rata.

Autor	Concentración (%)	Dosis recomendada $\left(\frac{mg}{Kg}\right)$
Mook (2004)	2.5	300
Green (1979)	2.5	300
Meyer (2000)	1.25	250 - 500

El TBE es un anestésico administrado vía i/p; el animal llega hasta hipnosis dentro de los primeros 5 minutos de la administración y la anestesia dura entre 60 – 120 minutos aproximadamente (Flecknell, 1998). Es necesario utilizar el fármaco recién preparado o con 5 días de antigüedad siempre y cuando se haya almacenado correctamente (4°C y en la oscuridad) (Lieggi, 2005).

2.3.2 *Mus musculus*

Los ratones se utilizan en investigación biomédica 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, 1998)

2.3.2.1 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS Y FISIOLÓGICAS

La tabla 5 enlista algunas de las características anatómicas y fisiológicas del ratón, información necesaria debido al tópico que se trata en este trabajo experimental.

Tabla 5. Datos biológicos y reproductivos del ratón (Harkness, 1999).

Género:	Mus
Especie:	musculus
Familia:	Muridae
Orden:	Rodentia
Suborden:	Myomorpha
Peso corporal adulto:	
Macho	20 – 40g
Hembra	25 – 40g
Tiempo de vida:	1.5 – 3 años
Temperatura corporal:	36.5 °C – 38 °C
Frecuencia cardiaca:	325 – 780 pulsos/min
Frecuencia respiratoria:	60 – 220 reps/min
Consumo de comida:	12-18g / 100g / día
Consumo de agua:	15ml / 100g / día
Tipo de ciclo estral:	Poliéstrico continuo
Determinación de las fases del ciclo estral:	Frotis vaginal
Vida reproductiva hembra:	7 – 9 meses
Duración del ciclo estral	4 – 5 días
Período de gestación:	19 – 21 días
Tamaño de la camada:	10 – 12 animales
Edad al destete:	21 – 28 días
Número de cromosomas (diploide):	40

2.3.2.1 ANESTESIA EN EL RATÓN

En el ratón es más común la administración de fármacos vía i/p o i/m debido a su pequeño tamaño corporal, de ahí que sea necesario utilizar muy bajas cantidades de fármaco en la dosificación, por lo que se aconseja diluirlo. La edad, el sexo y la cepa del individuo influyen la dosis del anestésico que se requiere. (Flecknell, 1998)

Pueden ser utilizados una amplia gama de anestésicos que incluyen al 2, 2, 2-Tribromoetanol, anestésico que evaluamos en este trabajo experimental.

A continuación se enumeran las dosis recomendadas por algunos autores.

Tabla 6. Dosis recomendada de 2,2,2-Tribromoetanol en ratón.

Autor	Concentración (%)	Dosis recomendada $\left(\frac{mg}{Kg}\right)$
Flecknell (1998)	1.2	240
Green (1979)	2.5	125 – 300
Mook (2004)	2.5	240 – 375
Papaioannou & Fox (1993)	1.2	240

El TBE se administra vía i/p; el animal llega hasta hipnosis dentro de los primeros 5 min de la administración y ésta dura alrededor de 60 – 120 min. Es necesario utilizar el fármaco recién preparado, si éste no es fresco es preciso corroborar la fecha de preparación así como el correcto almacenaje del producto (4°C en la oscuridad). (Lieggi, 2005)

Para evaluar algunos de los parámetros farmacológicos de muchos de los agentes anestésicos a utilizar podemos apoyarnos en métodos teórico-matemáticos como las curvas de Dosis-Respuesta Cuantal.

2.4 CURVA DOSIS RESPUESTA CUANTAL

En este punto hemos de considerar algunos principios básicos de la farmacología y tal vez el más importante es la respuesta al efecto producido por un fármaco y esto se encuentra en función de la cantidad del fármaco administrada, de allí que la dosis se defina como la cantidad de fármaco necesaria para que la concentración apropiada del mismo llegue al sitio del sistema donde ocurrirá la interacción (Levine, 1978). Para tratar de establecer el mecanismo de acción de un fármaco, analizando el mismo, es indispensable encontrar las relaciones de magnitud entre las dosis del fármaco y la intensidad de los efectos producidos o respuestas biológicas, lo que da origen a la curva dosis-respuesta. (Litter, 1986)

Los principios que derivan de las curvas dosis-respuesta son los mismos para animales que para humanos; sin embargo resulta peligroso y casi imposible su construcción a partir de datos en humanos, por lo que se utilizan los datos recabados de animales. (Craig, 1997)

Para elegir entre los diversos fármacos y determinar la dosis adecuada, es imprescindible conocer la **potencia farmacológica** relativa y la **eficacia máxima** de los fármacos en cuanto al efecto terapéutico deseado. (Figura 3)

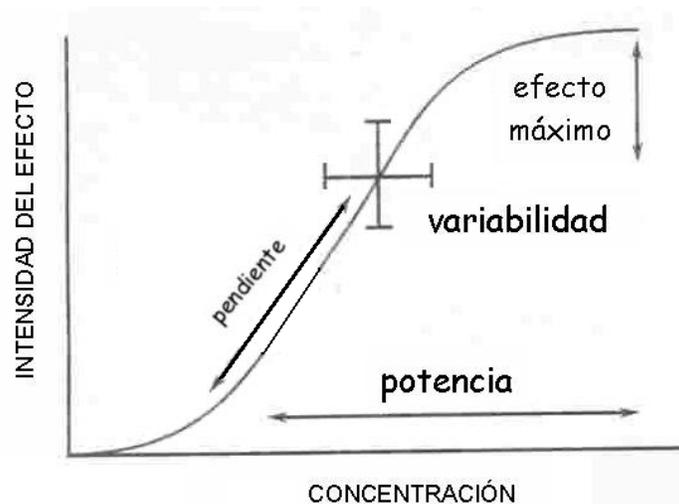


Figura 3. Relación concentración logarítmica-efecto. (Goodman & Gilman, 2006)

POTENCIA: Se refiere a la concentración (CE_{50}) o dosis (DE_{50}) de un fármaco que se requiere para producir 50% del efecto máximo de este medicamento. La potencia del fármaco depende, en parte, de la afinidad (K_D) de los receptores para unirse al fármaco, y en parte de la eficiencia con la cual la interacción fármaco-receptor se acopla a la respuesta. (Katzung, 2005)

EFICACIA MÁXIMA: Este parámetro refleja el límite 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. (Katzung, 2005)

PENDIENTE: Ésta refleja el mecanismo de acción de un fármaco, incluyendo la forma de la curva que describe su fijación al receptor correspondiente. La pendiente de la curva determina el intervalo de dosis útiles para lograr un efecto clínico. (Katzung, 2005)

2.4.1 RELACIÓN CUANTAL

En ciertos bioensayos, el analista a menudo está interesado en medir la potencia de una preparación que no genera una respuesta graduada 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 a la tolerancia. Este tipo de respuesta de todo o nada es conocida como una respuesta cuantal. (FEUM, 2004)

Además de la sensibilidad de un paciente dado, puede requerirse información adicional como la relación que existe entre la dosis y algunos parámetros específicos de la respuesta entre todos los individuos que toman dicho fármaco. Tal información puede obtenerse a partir de una **curva dosis-respuesta cuantal (CDRC)**. Para construir una CDRC es necesario obtener datos de un número determinado de individuos. (Figura 4)

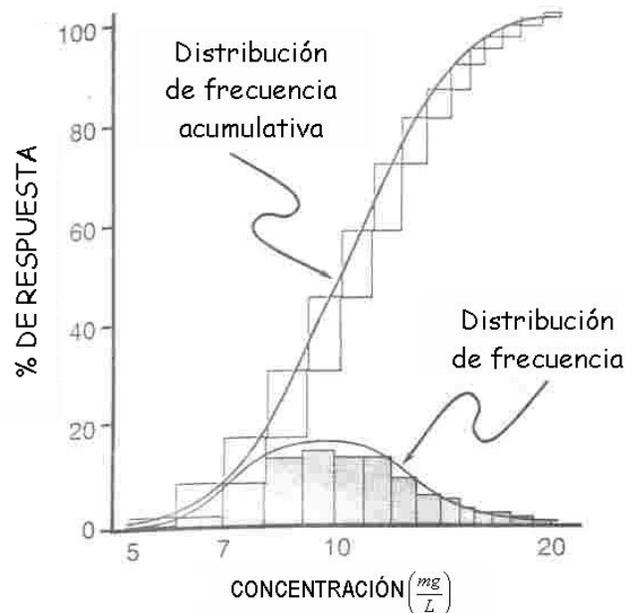


Figura 4. Curvas de Distribución de Frecuencia. (Goodman & Gilman, 2006)

La curva de la relación del porcentaje de respuesta con la dosis, es una curva 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 acumulativa, 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 (Figura 5). (FEUM, 2004).

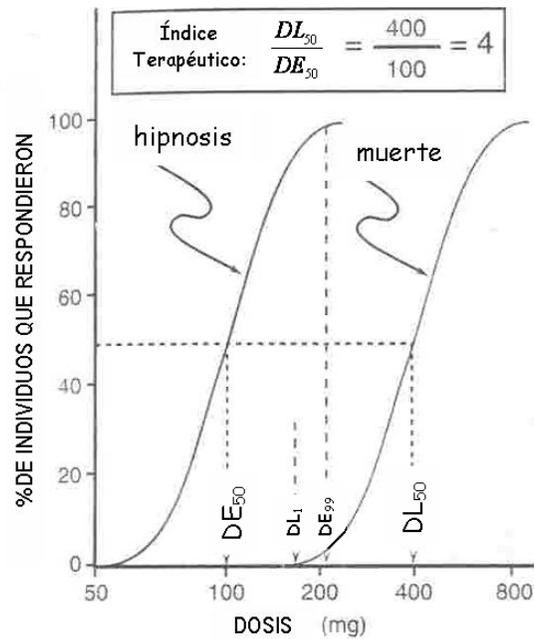


Figura 5. Curvas de dosis-efecto de todo o nada. (Goodman & Gilman, 2006)

La curva de dosis efecto cuantal suele caracterizarse determinando la **dosis eficaz media (DE₅₀)**, dosis a la que 50% de los individuos presentan el efecto cuantal especificado. 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, 2002)

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 (IT)** es una medida que relaciona la dosis de un fármaco que se requiere para definirse como el cociente de DL₅₀ sobre DE₅₀, este parámetro señala el grado de selectividad que posee un fármaco para generar los efectos deseados. (Goodman & Gilman, 2006)

$$IT = \frac{DL_{50}}{DE_{50}}$$

Como regla general, se considera a un fármaco seguro aquel que posee un IT elevado (alrededor de 10), sin embargo algunos agentes terapéuticos importantes tienen un índice terapéutico bajo (< 4).

Se ha sugerido que una estimación más realista de seguridad de un fármaco involucra una comparación de la dosis más baja que produce toxicidad (DL_1) y la dosis más alta que produce una respuesta terapéutica máxima (DE_{99}). El uso de estos parámetros da lugar al **Margen de Seguridad (MS)**. (Goodman & Gilman, 2006)

$$MS = \frac{DL_1}{DE_{99}}$$

Cabe mencionar que estos parámetros varían de acuerdo al fármaco utilizado y en algunos casos dependen de la naturaleza intrínseca del individuo. (Katzung, 2005)

2.5 FACTORES QUE MODIFICAN LA RESPUESTA FARMACOLÓGICA

Durante la fase experimental de un proyecto, se debe considerar que existen muchos factores que juegan un papel determinante sobre los efectos biológicos cuando un agente químico interactúa con un organismo vivo. Dichos factores pueden alterar la naturaleza o farmacocinética del fármaco, de allí que también pueda alterarse la intensidad de la respuesta. (Levine, 1978)

La mayoría de los factores que se conoce influyen la naturaleza o intensidad de la respuesta de los fármacos pueden clasificarse dependiendo de su fuente de variabilidad.

Las variables atribuidas al sistema biológico, como son: (Levine, 1978)

- Peso y talla corporal,
- Edad,
- Género (sexo),
- Relojes biológicos,
- Características heredadas y
- El estado general de salud.

La segunda categoría incluye variables atribuidas a las condiciones de administración como son:

- Dosis,
- Forma de dosificación,
- Vía de administración y
- El tipo de fármaco.

En el caso de este trabajo experimental se contemplaron como posibles variables a evaluar: 1. la respuesta biológica (inducción a hipnosis en el sujeto de experimentación), 2. el género y 3. los relojes biológicos que pudieran actuar sobre el efecto anestésico del 2, 2, 2-tribromoetanol.

2.5.1 GÉNERO

Aquí debe considerarse que por ser hembras éstas poseen un menor tamaño que los machos, además, hay una diferencia significativa en la proporción de la masa corporal entre los dos géneros. En las hembras adultas el tejido adiposo representa un porcentaje mayor que el de agua en el peso total que en el macho adulto, por lo tanto se requiere variar la dosis a administrar para obtener un efecto de la misma magnitud. Una diferencia mucho más marcada, en este punto, en el efecto de un fármaco ocurre cuando una hembra se encuentra preñada, que exceptuando los fármacos esenciales para mantener el embarazo; pueden tener peores consecuencias para el feto (cuando traspasan la barrera placentaria). (Levine, 1978)

2.5.2 RELOJES BIOLÓGICOS

Existen relojes biológicos que regulan el funcionamiento de todos los organismos vivos y la **cronobiología** estudia el mecanismo y significado de éstos, mientras que la **cronoterapia** se encarga de la administración de los medicamentos basada en los ritmos biológicos. Para complementar estos dos conceptos debemos también entender que la **cronofarmacología** es la disciplina que estudia 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, 1999)

2.5.2.1 RELOJ INTERNO

Nuestro organismo se ve influenciado por diversos factores. Los más estudiados en los últimos tiempos son los ritmos circadianos (esta palabra se deriva de los vocablos latinos *circa*: alrededor y *dies*: día). El reloj circadiano afecta los ritmos diarios de muchos procesos fisiológicos que presentan fluctuaciones con un ritmo de aproximadamente 24 horas. Entre ellos están el ciclo del 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. A pesar de que los ritmos circadianos tienden a sincronizarse con los ciclos de luz y oscuridad, otros factores – como la temperatura ambiental, horarios de comida, estrés y ejercicio – pueden influenciar el tiempo también. (Amir, 1996)

2.5.2.2 CLASIFICACIÓN DE RITMOS

En 1981 Enrigh clasificó a los ritmos biológicos en tres grupos de acuerdo con la frecuencia de su oscilación:

1. **Ritmos Ultradianos:** Tienen un periodo inferior a las 19 horas. El término ultra hace referencia a que la frecuencia es alta y la duración es corta; por ejemplo, el ritmo respiratorio, el ritmo cardíaco, las ondas eléctricas cerebrales, etc.
2. **Ritmos Circadianos:** Tienen un periodo cercano a las 24 horas y coinciden con la alternancia de día/noche.
3. **Ritmos Infradianos:** Tienen un periodo superior a las 29 horas. El término infra hace referencia a que la frecuencia es baja y la duración es larga, algunos ejemplos son: el ciclo menstrual de mamíferos y los ciclos reproductivos, etc.

(Amir, 1996)

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

Por todo lo anteriormente mencionado es necesario concretar los objetivos a evaluar a través de este trabajo experimental. (Amir, 1996)

CAPÍTULO III

OBJETIVOS

OBJETIVOS GENERALES:

- Determinar el Margen de Seguridad e Índice Terapéutico del 2,2,2-Tribromoetanol a partir de los parámetros obtenidos con la Curva Dosis Respuesta Cuantal en 2 especies diferentes de roedores: **Mus musculus** y **Rattus norvegicus**.
- Evaluar el efecto anestésico del 2,2,2-Tribromoetanol con respecto al horario de administración (9:00 a 11:00 h y de 16:00 a 18:00 h).
- Identificar si hay una variación significativa en la acción anestésica del 2,2,2-Tribromoetanol dependiente del género de las especies estudiadas.

OBJETIVO PARTICULAR:

- Determinar la DE_{50} , DE_{99} , DL_1 y DL_{50} del 2,2,2-Tribromoetanol administrado vía i/p a 2 especies diferentes de roedores: **Mus musculus** y **Rattus norvegicus** a dos horarios predeterminados y/o género.

CAPÍTULO IV

HIPÓTESIS

- Ningún fármaco anestésico posee un valor de MS ideal, sin embargo si se obtiene un MS con valor cercano a 1 podemos decir que es un anestésico seguro para animales de laboratorio.
- Debido a que el metabolismo de los roedores varía con respecto a la hora del día y en la mañana éste se encuentra acelerado, el periodo de anestesia disminuirá con respecto al tiempo de anestesia en el turno vespertino.
- Dado que la masa corporal lipídica es mayor en hembras y la alta lipofilidad del fármaco, es de esperar que el efecto anestésico del TBE actúe más rápidamente que en los machos.

CAPÍTULO V

5.1 MATERIAL Y MÉTODOS

5.1.1. MATERIAL

A. Material Biológico

Se utilizaron:

- * 144 ratones de los cuales 72 fueron macho y 72 hembra, de la especie *Mus musculus* cepa CFW dentro de un rango de peso de 22 a 30 g.
- * 120 ratas de las cuales 60 fueron macho y 60 hembra, de la especie *Rattus norvegicus* cepa Wistar dentro de un rango de peso de 180 a 250 g.

Los animales empleados en este experimento provienen del Bioterio de la Facultad de Química y no se han sometido previamente a experimentación. Las condiciones de mantenimiento de los animales son las que marca la NOM-062-ZOO-1999. En el caso del alimento (Lab chow 5001) y agua fueron ad limitum.

B. Sustancias

2,2,2-Tribromoetanol, Pureza 96% (GC). FLUKA.

C. Soluciones

- * Solución Salina Isotónica 0.9%. BAXTER
- * Etanol
- * Solución de TBE al 2%

D. Equipo de Curación

- * Jeringas desechables (1, 3, 5 y 10 mL) de plástico con aguja de acero inoxidable calibre 25

E. Equipo Fijo

- * Balanza granataria (Ottaus)
- * Cronómetro (Digital timer Clock, CE)
- * Marcadores Indelebles (Berol; Esterbrook)

5.2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

La metodología empleada durante la etapa experimental de este trabajo fue la medición de latencias para así diferenciar cada etapa de la anestesia, por lo tanto tenemos que:

LATENCIA DE SEDACIÓN: Es el tiempo transcurrido desde la administración del fármaco hasta que el animal presenta incoordinación motora. (Bustamante, 2002)

LATENCIA DE HIPNOSIS: Es el periodo de tiempo desde la administración del fármaco hasta la pérdida del reflejo de enderezamiento del animal. (Bustamante, 2002)

LATENCIA DE RECUPERACIÓN: Es el lapso de tiempo desde que el fármaco es administrado hasta la recuperación de la conciencia del animal atravesando por las etapas de sedación e hipnosis. (Bustamante, 2002)

DURACIÓN DE LA HIPNOSIS: Es el periodo de tiempo que va desde la pérdida del reflejo de enderezamiento del animal hasta su recuperación. (Bustamante, 2002)

MUERTE: En caso de que el animal no se recupere, pierde el reflejo de enderezamiento, la frecuencia cardiaca y respiratoria dando como resultado el deceso del animal. (Bustamante, 2002)

Para cada especie de roedor se establecieron las dosis requeridas para la construcción de las CDRC y estos fueron elegidos aleatoriamente (n = 6 roedores) para cada dosis. Se administró el anestésico en dos horarios, el turno matutino de 9:00 a 11:00 h y el turno vespertino de 16:00 a 18:00 h; y para cada horario se utilizaron los dos géneros de cada roedor, machos y hembras.

Cada grupo recibió el siguiente tratamiento:

1. Pesar y marcar 6 animales para cada concentración de TBE.
2. Administrar por vía i.p. TBE a las siguientes dosis:

Tabla 7. Agrupación de especímenes por concentración correspondiente.

Ratón	Dosis TBE $\left(\frac{mg}{Kg}\right)$	Rata	Dosis TBE $\left(\frac{mg}{Kg}\right)$
1 – 6	35	1 – 6	75
7 – 12	70	7 – 12	150
13 – 18	125	13 – 18	300
19 – 24	250	19 – 24	350
25 – 30	400	25 – 30	450
31 – 36	600		
37 – 42	800		

3. Observar cuidadosamente a los animales luego de la administración del anestésico, durante los primeros 30 minutos, para valorar si el animal llegó al periodo de sedación (incoordinación motora), hipnosis (pérdida del reflejo de enderezamiento) o bien a la muerte.
4. Recopilar los datos obtenidos durante la experimentación.
5. A partir de la CDRC obtener los parámetros: DE₅₀, DE₉₉, DL₁, DL₅₀.
6. Calcular el valor numérico del IT y MS.

7. Se linealizaron los datos tal como lo pide la FEUM para calcular la DE_{50} de manera más exacta.
8. El análisis estadístico de los resultados de elección fue la ANADEVIA de una vía. (Bustamante, 2002)

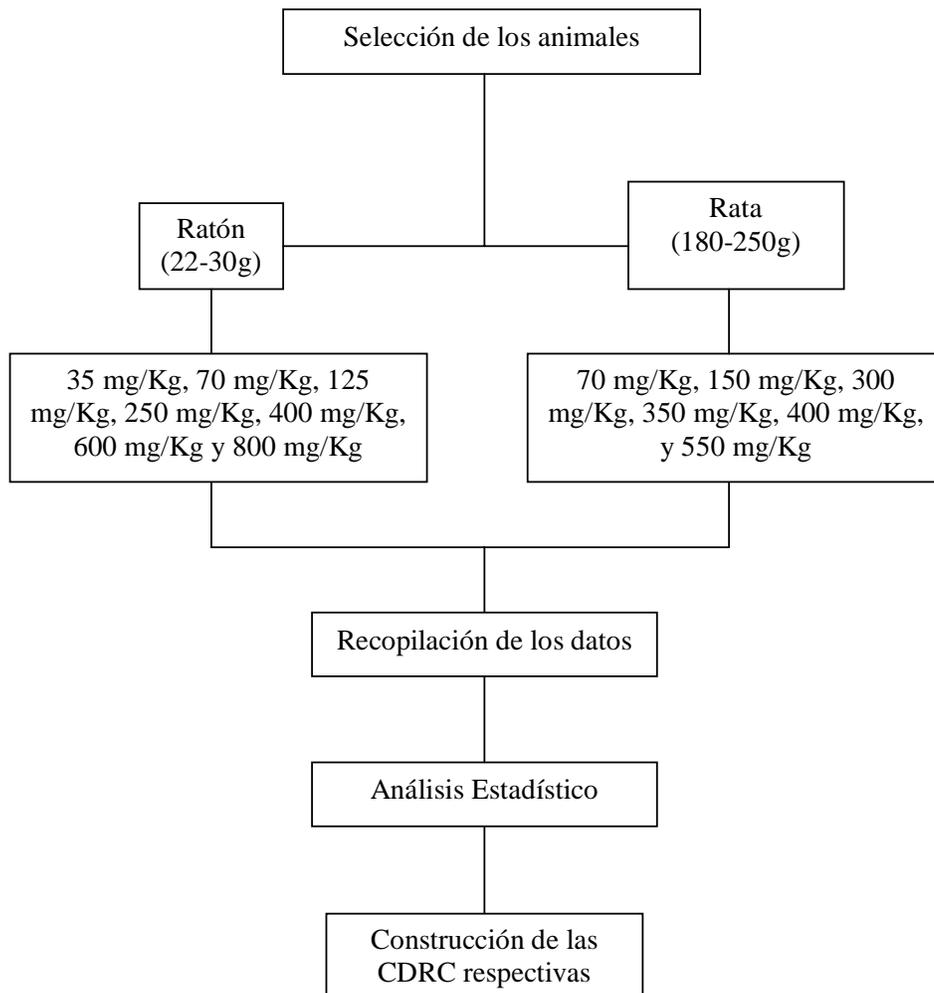
Para determinar el 0% y 100% de respuesta en Unidades de Probabilidad (probit) se utilizan las siguientes fórmulas:

Donde n = número de animales = 6

$$U.P.(0\%) = \frac{0.25}{n} * 100 = 4.16\%$$

$$U.P.(100\%) = \frac{n - 0.25}{n} * 100 = 95.83\%$$

5.1 DIAGRAMA DE FLUJO



CAPÍTULO VI

RESULTADOS

A continuación se muestran las Curvas Dosis-Respuesta Cuantal del 2,2,2-Tribromoetanol de la rata y ratón ambos sexos a los horarios previamente marcados; así como los datos requeridos para su construcción y análisis. Las unidades probit fueron obtenidas de tablas (ANEXO 2), donde el valor para el 0% es de 3.25 y para el 100% de 6.73.

Los valores correspondientes a las DL_{1} , DL_{50} , DE_{50} , DE_{99} , MS e IT ya están corregidos estadísticamente utilizando el modelo de regresión lineal que exige la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.

Mus musculus ♂

Tabla 8. Resultados de la administración de TBE en ratón macho vía i/p a las 9:00 y 16:00 h. Donde: D=Dosis; H=Hipnosis; M=Muerte; U.P.=unidades probit o de probabilidad; U.P.H.=unidades de probabilidad de Hipnosis; U.P.M.=unidades de probabilidad de Muerte.

		9:00 – 11:00h y 16:00 – 18:00			
Dosis (mg/Kg)	Log D	% H	U.P.H.	% M	U.P.M.
35	1.54	0	3.25	0	3.25
70	1.85	0	3.25	0	3.25
125	2.10	33.33	4.56	0	3.25
250	2.40	100	6.73	0	3.25
400	2.60	100	6.73	0	3.25
600	2.78	100	6.73	100	6.73
800	2.90	100	6.73	100	6.73

En el caso de los ratones macho los valores obtenido durante la experimentación en ambos horarios, de 9:00 – 11:00 h y 16:00 – 18:00 h, no variaron; por lo que sólo se presenta una tabla con los resultados generales.

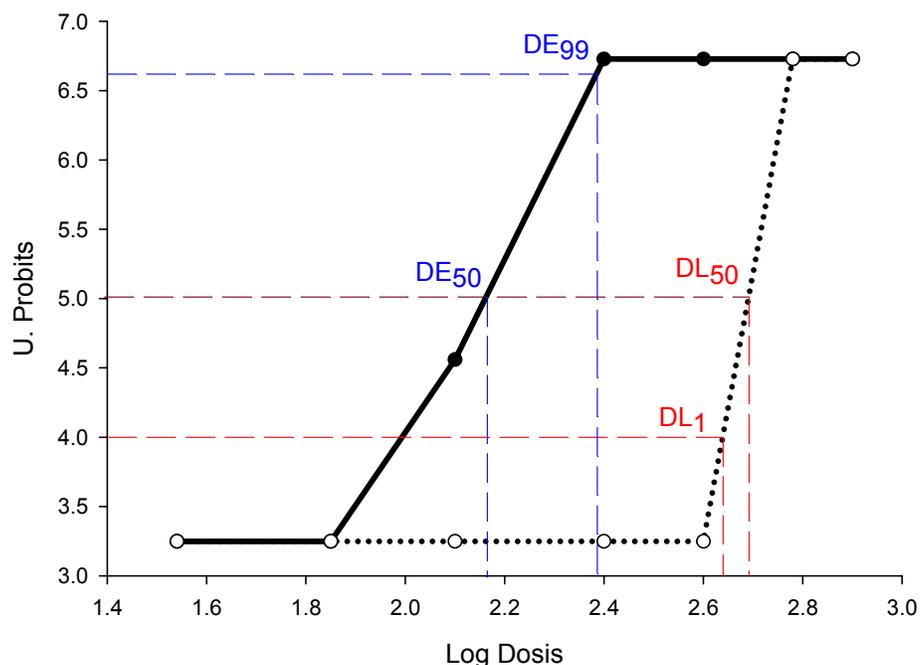


FIGURA 6. CURVA DOSIS RESPUESTA CUANTAL. Unidades Probits vs. Log Dosis del 2,2,2-tribromoetanol administrado vía i/p en ratón macho. $DE_{50}=137.321 \pm 4.868$ mg/kg, $DL_{50}=490.503 \pm 4.932$ MS= 1.764 ± 0.998 .

***Mus musculus* ♀**

Tabla 9. Resultados de la administración de TBE en ratón hembra vía i/p a las 9:00 y 16:00 h. Donde: D=Dosis; H=Hipnosis; M=Muerte; U.P.=unidades probit o de probabilidad; U.P.H.=unidades de probabilidad de Hipnosis; U.P.M.=unidades de probabilidad de Muerte.

Dosis (mg/Kg)	Log Dosis	9:00 – 11:00 h				16:00 – 18:00 h			
		% H	U.P.H.	% M	U.P.M.	% H	U.P.H.	% M	U.P.M.
35	1.54	0	3.25	0	3.25	0	3.25	0	3.25
70	1.85	0	3.25	0	3.25	0	3.25	0	3.25
125	2.10	33.33	4.56	0	3.25	16.67	4.01	0	3.25
250	2.40	100	6.73	0	3.25	100	6.73	0	3.25
400	2.60	100	6.73	0	3.25	100	6.73	0	3.25
600	2.78	100	6.73	100	6.73	100	6.73	100	6.73
800	2.90	100	6.73	100	6.73	100	6.73	100	6.73

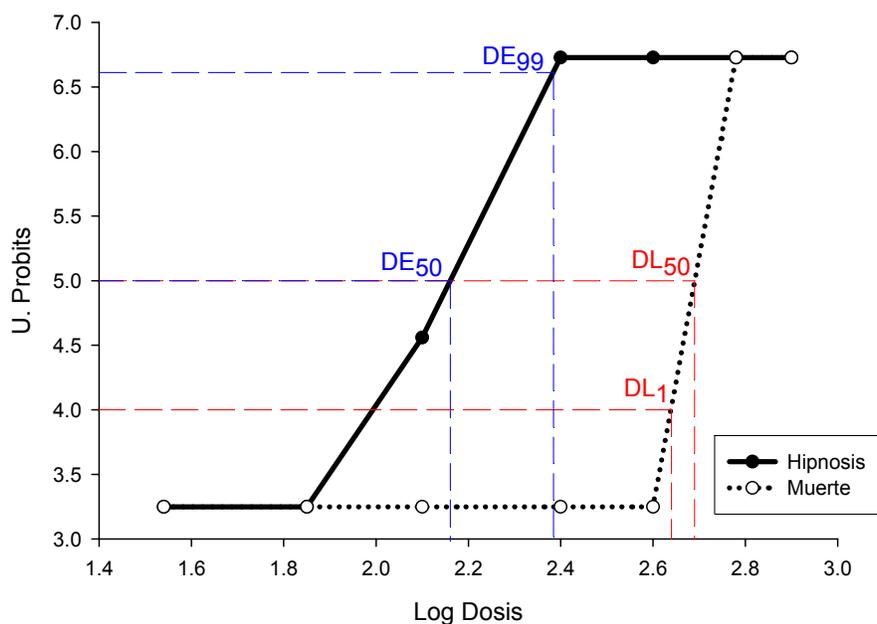


FIGURA 7. CURVA DOSIS RESPUESTA CUANTAL. Unidades Probits vs. Log Dosis del 2,2,2-tribromoetanol administrado vía i/p a las 9:00 h en ratón hembra. $DE_{50}=137.321\pm 4.868$ mg/Kg, $DL_{50}=490.503\pm 4.932$ mg/Kg, $MS=1.764\pm 0.998$ mg/Kg.

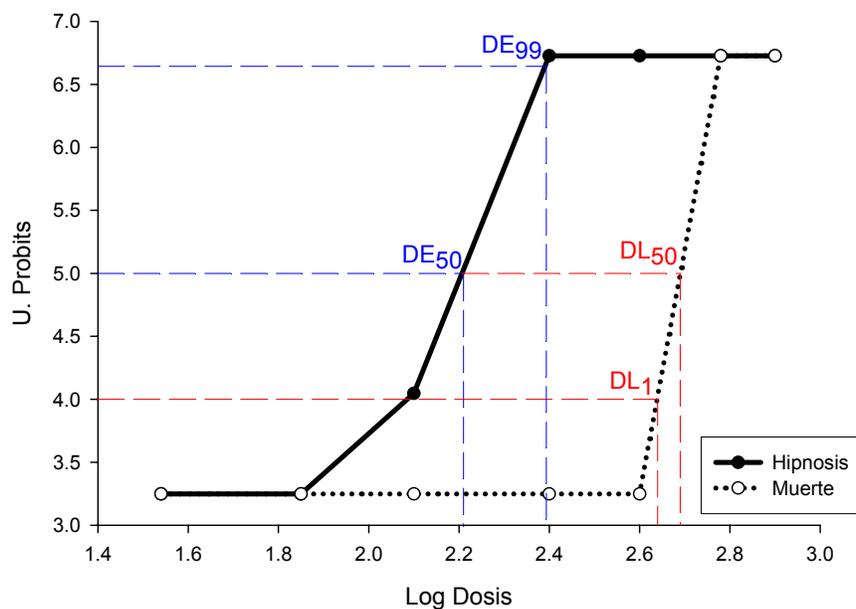


FIGURA 8. CURVA DOSIS RESPUESTA CUANTAL. Unidades Probits vs. Log Dosis del 2,2,2-tribromoetanol administrado vía i/p a las 16:00h en ratón hembra. $DE_{50}=146.009\pm 5.123$ mg/Kg, $DL_{50}=490.503\pm 4.932$ mg/Kg, $MS=1.668\pm 1.515$.

***Rattus norvegicus* ♂**

Tabla 10. Resultados de la administración de TBE en rata macho vía i/p a las 9:00 y 16:00 h. Donde: D=Dosis; H=Hipnosis; M=Muerte; U.P.=unidades probit o de probabilidad; U.P.H.=unidades de probabilidad de Hipnosis; U.P.M.=unidades de probabilidad de Muerte.

Dosis (mg/Kg)	Log Dosis	9:00 – 11:00 h				16:00 – 18:00 h			
		% H	U.P.H.	% M	U.P.M.	% H	U.P.H.	% M	U.P.M.
75	1.88	0	3.25	0	3.25	0	3.25	0	3.25
150	2.18	83.33	5.92	0	3.25	100	6.73	0	3.25
300	2.48	100	6.73	33.33	4.56	100	6.73	33.33	4.56
350	2.54	100	6.73	33.33	4.56	100	6.73	33.33	4.56
400	2.60	100	6.73	83.33	5.92	100	6.73	100	6.73
550	2.74	100	6.73	100	6.73	100	6.73	100	6.73

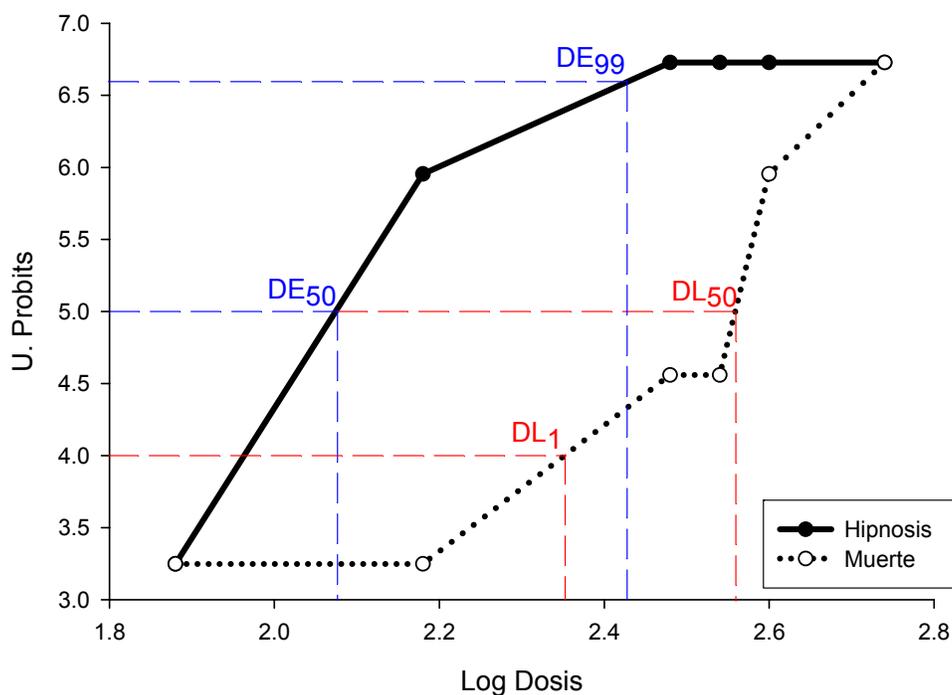


FIGURA 9. CURVA DOSIS RESPUESTA CUANTAL. Unidades Probits vs. Log Dosis del 2,2,2-tribromoetanol administrado vía i/p a las 9:00h en rata macho. $DE_{50}=132.552\pm 3.701$ mg/Kg, $DL_{50}=320.883\pm 3.762$ mg/Kg, $MS=0.878\pm 0.443$.

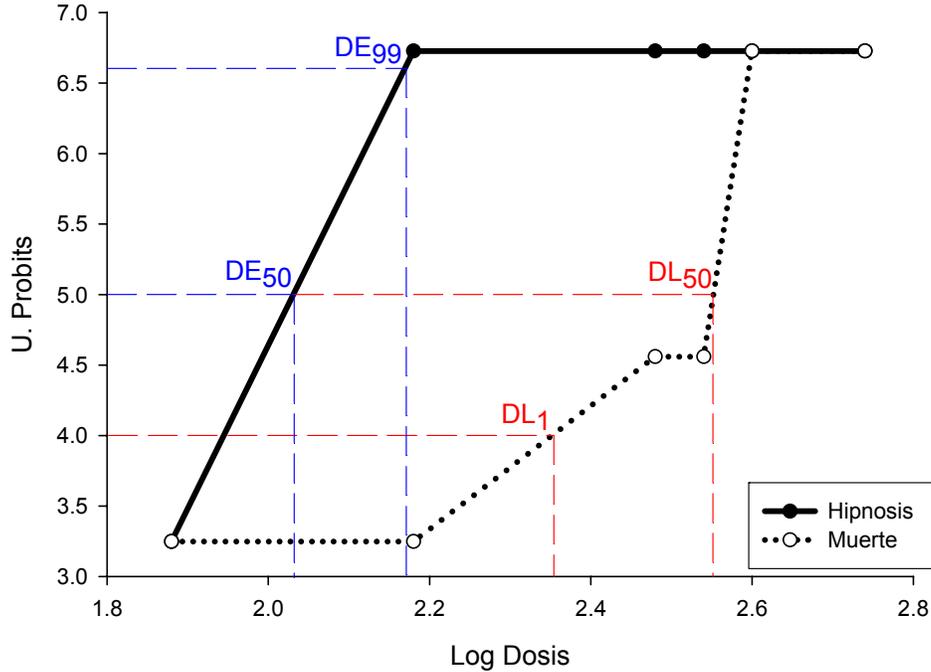


FIGURA 10. CURVA DOSIS RESPUESTA CUANTAL. Unidades Probits vs. Log Dosis del 2,2,2-tribromoetanol administrado vía i/p a las 16:00h en rata macho. $DE_{50}=106.308\pm 3.800$ mg/Kg, $DL_{50}=305.538\pm 4.381$ mg/Kg, $MS=1.466\pm 1.5$.

***Rattus norvegicus* ♀**

Tabla 11. Resultados de la administración de TBE en rata hembra vía i/p a las 9:00 y 16:00 h. Donde: D=Dosis; H=Hipnosis; M=Muerte; U.P.=unidades probit o de probabilidad; U.P.H.=unidades de probabilidad de Hipnosis; U.P.M.=unidades de probabilidad de Muerte.

Dosis (mg/Kg)	Log Dosis	9:00 – 11:00 h				16:00 – 18:00 h			
		% H	U.P.H.	% M	U.P.M.	% H	U.P.H.	% M	U.P.M.
75	1.88	0	3.25	0	3.25	0	3.25	0	3.25
150	2.18	100	6.73	0	3.25	100	6.73	0	3.25
300	2.48	100	6.73	50	5	100	6.73	83.33	5.92
350	2.54	100	6.73	66.67	5.41	100	6.73	83.33	5.92
400	2.60	100	6.73	66.67	5.41	100	6.73	83.33	5.92
550	2.74	100	6.73	100	6.73	100	6.73	100	6.73

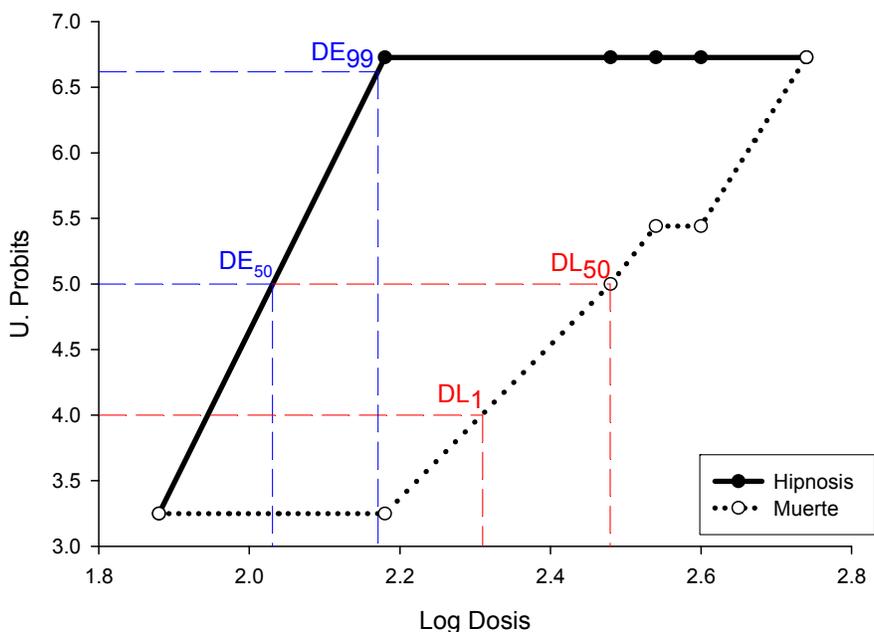


FIGURA 11. CURVA DOSIS RESPUESTA CUANTAL. Unidades Probits vs. Log Dosis del 2, 2, 2-tribromoetanol administrado vía i/p a las 9:00h en rata hembra. $DE_{50}=106.308\pm 3.800\text{mg/Kg}$, $DL_{50}=301.355\pm 3.622\text{ mg/Kg}$, $MS=1.407\pm 1.166$.

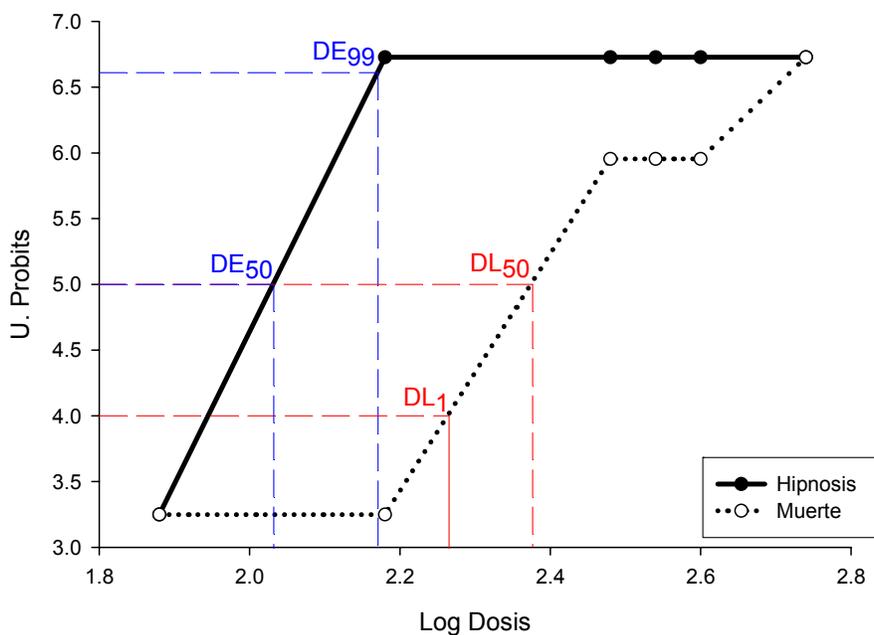


FIGURA 12. CURVA DOSIS RESPUESTA CUANTAL. Unidades Probits vs. Log Dosis del 2, 2, 2-tribromoetanol administrado vía i/p a las 16:00h en rata hembra. $DE_{50}=106.312\pm 3.800\text{mg/Kg}$, $DL_{50}=260.358\pm 4.199\text{mg/Kg}$, $MS=1.232\pm 0.952$.

CAPÍTULO VII

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Al inicio de este proyecto se planteó utilizar las dos especies de roedores comúnmente empleadas en la investigación biomédica, ratas (*Rattus norvegicus*) y ratones (*Mus musculus*), para evaluar algunos parámetros farmacológicos del TBE y así verificar su viabilidad como anestésico; en el caso de las ratas elegimos jóvenes adultos con un peso de entre 180g a 250g (8-10 semanas de edad), para los ratones que también son jóvenes adultos el intervalo de peso seleccionado fue de 22g a 30g (4-6 semanas de edad).

Sabemos que en investigación se prefiere trabajar con machos, sin embargo, encontré en la literatura que las hembras presentaban mayor resistencia al envenenamiento con los productos de descomposición del TBE, Ácido Bromhídrico y Dibromoacetaldehído (Nicol T, 1965), por lo que se decidió incluir a ambos géneros. En el caso de los horarios tomamos como parámetro el hecho de que el efecto anestésico de algunos fármacos tiende a variar con el horario de administración, pues el metabolismo de estos roedores se encuentra acelerado durante las mañanas; de ahí que se decidiera un horario diurno y uno nocturno para evaluar el efecto del TBE sobre sus organismos. (Amir, 1996)

Las dosis para la elaboración de las curvas fueron elegidas a partir de datos encontrados en la literatura. (Flecknell, 1998; Green, 1979; Meyer, 2000; Mook, 2004; Papaioannou & Fox, 1993).

En el caso de este fármaco (TBE) hay muy poca información sobre sus propiedades farmacológicas en la literatura, sin embargo, encontré que dentro de la clasificación a la que el TBE pertenece se encuentra el hidrato de cloral el cual posee una estructura muy parecida al 2, 2, 2-tribromoetanol y probablemente debido a la relación estructural que hay entre ellos podrían poseer actividad farmacológica muy similar, por lo que el anexo II corresponde a la comparación de ambos (TBE y TCA respectivamente); ya que en la parte farmacológica de esta tesis se mencionan algunas acciones del TBE que se complementaron con

información encontrada sobre el TCA y el TCE. Esta información está fundamentada en artículos y libros que en muchas ocasiones mencionan a dos de los fármacos (TCA y TBE o TCE y TBE) o a los tres.

El análisis estadístico de los datos obtenidos durante la etapa experimental muestra que no hay diferencia significativa entre ellos, poniendo de manifiesto que tanto el horario de administración como el sexo o la especie de los individuos muestreados no afectan la acción anestésica esperada del 2,2,2-tribromoetanol.

Como ya se mencionó anteriormente no hubo diferencia significativa respecto al horario de administración o al sexo del animal, que en comparación con otros anestésicos, es importante tomar en cuenta los ciclos circadianos de los animales para una efectiva dosificación.

Por otro lado, al realizar los cálculos pertinentes, encontré que los valores del Margen de Seguridad son muy bajos, alrededor de 0.4 a 1.0. Se considera un fármaco de elección aquel que reporta un MS de 10 respecto de los beneficios efecto/seguridad, sin embargo al comparar estos parámetros con los de otros fármacos que se utilizan actualmente para la inducción de la anestesia sus valores no superan un MS e IT de 4 (tanto en animales como para humanos), de hecho difícilmente llegan a tal valor, por lo que aún cuando el MS e IT del 2, 2, 2-tribromoetanol sean pequeños (IT entre 2.4–3.5) no debemos descartar a este anestésico, pues en comparación, por ejemplo, con el pentobarbital sódico (PS) el cual su IT =1.9. (Birrueta, 2003; Cabrera, 1993; Plumb, 2002), que se ha hecho ya uno de los anestésicos de elección el TBE posee mejores características en cuanto a los parámetros antes mencionados; además en el caso del PS el horario si es importante dado que se recomienda que su administración se lleve a cabo por la mañana debido al efecto del metabolismo del animal (Birrueta, 2003; Cabrera, 1993; Plumb, 2002) y el TBE puede ser administrado a cualquier horario, ya que el ritmo circadiano no influye en su acción; en lo que se refiere al tiempo en que los roedores llegan a hipnosis podemos decir que a la DE_{50} del TBE no requieren más de 2 min en alcanzar dicho estado y la recuperación de los animales es total con una duración de la anestesia mayor a 60 minutos, en el caso particular del PS la hipnosis se alcanza a 4 min postadministración con un lapso

de duración de alrededor de 22 minutos (Birrueta, 2003; Cabrera,1993); la depresión respiratoria, que se presenta durante la anestesia causada por ambos fármacos, en el caso del PS más marcada que la producida por el TBE. Si la dosificación y administración del TBE son las adecuadas, en procesos agudos, hay una recuperación del 100% de los animales con los que se trabaja, caso contrario con la administración del PS cuya tasa de mortalidad es alta poniendo en riesgo la fase experimental para la que se haya requerido el anestésico.

A pesar de que algunos autores hayan tachado al TBE como peligroso (Zeller, 1998) por los productos tóxicos en los que se descompone, si éste se utiliza recién preparado o se almacena correctamente (a 4°C en la oscuridad) puede utilizarse con la certeza de un buen resultado (Zimmerman, 1999); en mi caso utilicé el TBE tanto recién preparado como almacenado un máximo de 3 días y la solución aún era viable obteniéndose los resultados esperados. También cabe señalar que aunque los cristales de TBE son costosos esto se compensa, pues un frasco contiene 50g y se utiliza una solución al 2%, a razón de 0.5g para 25mL y el volumen a administrar es muy bajo, por lo que rinde bastante; es importante recalcar que no es una sustancia controlada, por lo que no se debe hacer una petición legal en especial para su adquisición, esto en comparación por ejemplo con el PS, el cual es un fármaco de uso controlado.

En este caso en particular, como finalmente para cualquier anestésico, si desde un principio se prepara correctamente, se dosifica razonablemente y se administra de la manera adecuada el fármaco proporcionará una anestesia eficiente, como es el caso de la solución de TBE, que efectúa su acción anestésica sobre los roedores alrededor de 60 a 120 minutos (Flecknell, 1998), esto te permite llevar a cabo cirugías exitosas y con una recuperación total de los animales. Se recomienda utilizar el TBE de 1.2% hasta 2.0% porque se ha encontrado que a concentraciones del 2.5% causa adhesión intestinal (Zeller, 1997), en la administración i/p. Yo utilicé el fármaco al 2% es decir, a una concentración de 20 *mg de TBE/Kg de peso* obteniendo que para los ratones la DE_{50} es de entre 137 a 147 *mg de TBE/Kg de peso* y para la rata de entre 106 a 133 *mg de TBE/Kg de peso*, lo cual es razonable, pues la literatura consultada dice que la dosificación en

ratones de una solución de TBE al 1.2% es de 200 – 400 *mg de TBE/Kg de peso* y en las ratas es de 150 – 300 *mg de TBE/Kg de peso*, que aún cuando no son datos para una solución al 2%, las cantidades se encontrarían dentro de los rangos señalados. Es importante advertir que se recomienda utilizar el TBE en protocolos de investigación que involucren procesos agudos, pues si hay una administración crónica puede causar hepatotoxicidad, tolerancia, adhesión peritoneal y/o hasta la muerte (Zeller,1997).

Es cierto que actualmente se cuenta con anestésicos volátiles menos dañinos para los animales, sin embargo, es altamente costoso debido a que se requiere de equipo especial y es necesario de un operador calificado para dispensar el anestésico (Flecknell, 1998); en investigación o en la academia muchas veces es importante tener presente el binomio costo/beneficio, por lo que se deben pensar en alternativas viables y el TBE puede ser la elección, pues en comparación, es fácil de preparar, su costo es menor y si se tienen en cuenta sus deficiencias, se puede optimizar el protocolo experimental para obtener los resultados deseados utilizando un anestésico (TBE) confiable y seguro.

CAPÍTULO VIII

CONCLUSIONES

- El TBE es un anestésico confiable y seguro, posee un $MS=1\pm 0.121$.
- La dosificación del mismo es independiente de la hora de la administración o del género del roedor.
- El tiempo en que se alcanza la hipnosis y el tiempo de recuperación no dependen del género del animal.
- La hora de administración no aumenta o disminuye el tiempo de anestesia del TBE sobre el animal.

A N E X O 1

Tabla 12. Resultados de Probabilidad después de realizar la ANADEVIA de una sola vía para rata, ratón y la interacción rata-ratón.

(Donde AM = horario de 9 – 11 h; PM = horario de 16 – 18h; ♂ = macho y ♀ = hembra)

R A T Ó N		
	Comparación	Probabilidad
HIPNOSIS	♂ AM vs. PM	1.000
	♀ AM vs. PM	1.000
	♀ vs. ♂ AM	0.902
	♀ vs. ♂ PM	1.000
	♀ vs. ♂; (ambos horarios)	1.000
MUERTE	♂ AM vs. PM	1.000
	♀ AM vs. PM	1.000
	♀ vs. ♂ AM	1.000
	♀ vs. ♂ PM	1.000
	♀ vs. ♂; (ambos horarios)	1.000

R A T A		
HIPNOSIS	♂ AM vs. PM	0.699
	♀ AM vs. PM	1.000
	♀ vs. ♂ AM	0.699
	♀ vs. ♂ PM	1.000
	♀ vs. ♂; (ambos horarios)	0.919
MUERTE	♂ AM vs. PM	0.878
	♀ AM vs. PM	0.706
	♀ vs. ♂ AM	0.874
	♀ vs. ♂ PM	0.728
	♀ vs. ♂; (ambos horarios)	0.957

R A T Ó N + R A T A		
HIPNOSIS	♀ AM	0.979
	♀ PM	0.979
	♂ AM	0.979
	♂ PM	0.979
	♀ + ♂ AM	0.985
	♀ + ♂ PM	1.000
	♀ + ♂	1.000
MUERTE	♀ AM	0.979
	♀ PM	0.979
	♂ AM	0.979
	♂ PM	0.979
	♀ + ♂ AM	1.000
	♀ + ♂ PM	1.000
	♀ + ♂	1.000

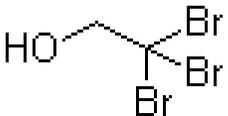
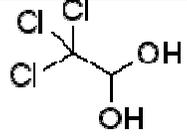
A N E X O 2

Tabla 13. 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	6,598	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	6,838	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

A N E X O 3

Tabla 14. Relación Estructura Actividad del TBE con el TCA. (Chang, 1996; Chari, 2001; Douglas, 1953; Flecknell, 1998; Green, 1979; Krasowski, 2000; Moreno, 2003; Wiseman, 1978)

PROPIEDAD	TRIBROMOETANOL	HIDRATO DE CLORAL
Nombre Químico	2, 2, 2-tribromoetanol	2, 2, 2-tricloroetano-1, 1-diol
Estructura Química		 <p style="text-align: center;">Figura 13. Estructura química del TCA</p>
Apariencia física	Polvo cristalino, incoloro o blanco de olor característico.	Cristales transparentes, incoloros o blancos con un olor aromático, penetrante y ligeramente acre.
Solubilidad	Es muy poco soluble en agua; es soluble en alcohol, éter, benceno y es muy soluble en hidrato de amileno	Es soluble en agua, etanol, éter y cloroformo y muy soluble en aceite de oliva.
Productos de descomposición	Ácido Bromhídrico y Dibromoacetaldehido	Tricloroetanol y ácido tricloroacético

<p>Propiedades farmacológicas</p>	<p>* Ambos fármacos se utilizaron para el tratamiento de convulsiones inducidas, también para ataques convulsivos en tétanos y en algunos casos agudos de eclampsia.</p> <p>* Con ambos fármacos hay una depresión del SNC tanto como del sistema respiratorio.</p>	
<p>Farmacocinética</p>	<p>Ambos fármacos se absorben rápidamente por la mucosa gastrointestinal, en el caso del TBE dentro de los primeros 10 minutos luego de la administración, el Hidrato de Cloral (TCA) tarda 20 minutos. Estos compuestos se conjugan con el ácido glucorónico en el hígado para ser eliminado, casi por completo en la orina. También cabe mencionar que ambos fármacos difunden a través de la placenta; aunque el TCA no deprime al feto al grado que lo hace el TBE.</p>	
<p>Carcinogénesis</p>	<p>Se utiliza para la producción de ratones transgénicos.</p>	<p>Forma carcinomas hepáticos y adenomas.</p>

A N E X O 4

Tabla 15. RESUMEN DE LOS DATOS FARMACOLÓGICOS OBTENIDOS DURANTE LA EXPERIMENTACIÓN

ESPECIE	SEXO	HORARIO	DE ₅₀	DE ₉₉	DL ₁	DL ₅₀	MS	IT
<i>Mus musculus</i>	♂	AM, PM	137.321±4.686	248.271±4.686	438.071±4.932	490.503±4.932	1.764±0.998	3.572±1.055
	♀	AM	137.321±4.686	248.271±4.686	438.071±4.932	490.503±4.932	1.764±0.998	3.572±1.055
		PM	146.009±5.123	262.631±5.123	438.071±4.932	490.503±4.932	1.668±1.515	3.359±0.971
<i>Rattus norvegicus</i>	♂	AM	132.552±3.701	253.38±3.701	222.581±3.762	320.883±3.762	0.878±0.443	2.421±0.282
		PM	106.308±3.800	146.98±3.800	215.464±4.381	305.538±4.381	1.466±1.5	2.874±0.471
	♀	AM	106.308±3.800	146.98±3.800	206.831±3.622	301.355±3.622	1.407±1.166	2.835±0.343
		PM	106.312±3.800	146.986±3.800	181.053±4.199	260.358±4.199	1.232±0.952	2.449±0.371

CAPÍTULO IX

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abbas RR, Seckel CS, Fisher JW. Pharmacokinetic analysis of chloral hydrate and its metabolism in B6C3F1 mice. *Drug Metab Dispos.* 1996; 24(12): 1340-1346.
2. Adams HR. Farmacología y terapéutica veterinaria. 2a. Edición. Editorial Acribia. España, 2001. pp.168-177.
3. Akers KS, Sinks GD, Schultz TW. Structure–toxicity relationships for selected halogenated aliphatic chemicals. *Environ Toxicol Pharmacol.* 1999; 33-39.
4. Amir S, Stewart J. Ressetting of the circadian clock by a conditiones stimul. *Nature.* 1996, Feb. 379:540-545.
5. Birrueta T. Evaluación de la Curva Dosis Respuesta Cuantal del efecto anestésico del Pentobarbital sódico en cuatro genéricos administrados por vía intraperitoneal a dos horas predeterminadas en la especie *Mus musculus*. UNAM, FQ. México, 2003.
6. Bowman WC. Farmacología: Bases bioquímicas y patológicas: Aplicaciones clínicas. 2a. Edición. Nueva Editorial Interamericana. México, 1984. pp.7.5 y 7.12.
7. Bustamante R, González ME, Gómez AE, Hernández EH, Herrera L, Amezquita MV, Naranjo EB, Ortiz A, Páez RM, Pérez F, Ponce HA, Silva G, Vázquez AM, Ventura R. Un interesante contenido Farmacológico para sesiones Experimentales. UNAM, FQ. México, 2002. pp. 65-67.
8. Cabrera BR, Mencías RE, Fomeiro CJ. Toxicología de los Psicofármacos. Editorial Mosby Year Book. Madrid, España; 1993. pp. 185-223.
9. Chang Y, Wong T, Lloyd R, Heinze T, Shelton S, Casciano D, Kadlubar F, Fu P. Mouse liver microsomal metabolism of Chloral Hydrate, Trichloroacetic acid, and Trichloroethanol leading to induction of lipid peroxidation via a free radical mechanism. *Drug Metabolism and Disposition.* 1996, 24(1):81-90.
10. Chari YT, Burnett JC, Redfield MM. Effects of avertin versus xylazine-ketamine anesthesia on cardiac function in normal mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001, July; 281:H1938-H1945.

11. Craig RC, Stitzel RE. Modern pharmacology with Clinical Applications. 5a. Edición. Editorial Little Brown and Company. USA, 1997. pp. 3-11
12. De Fiebre NC, Marley RJ, Wehner JM, Collins AC. Lipid Solubility of Sedative-Hypnotic Drugs Influences Hypothermic and Hypnotic Responses of Long-Sleep and Short-Sleep Mice. *J Pharmacol Exp Ther.*1992, June; 263(1):232-240.
13. Douglas W. Rectal Tribrom-ethanol (AVERTIN, BROMETHOL) in eclamptic toxemia. *Canad M A J.* 1953, Sept; 69: 253-57.
14. FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS, FEUM 9a. Edición. SSA. Tomo II. 2004. pp. 2291-2295.
15. Flecknell PA. Anestesia de Animales de Laboratorio. Introducción Práctica para Investigadores y Técnicos. 2ª. Edición. Editorial Acribia, S.A. España, 1998. pp. 1-73.
16. Ganong W. Fisiología Médica. 20ª. Edición. Edit. Manual Moderno. México, 2006.
17. Gilman A, Goodman LS. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Capítulos 4. Principios de Toxicología. Klaassen C., 13. Historia y principios de anestesiología. Beattie C. y 17. Hipnóticos y Sedantes. Charney D, Harris A. 8ª. Edición. Editorial Médica Panamericana. México, 1991. pp. 65, 274-276, 283-287, 358-364.
18. Gómez AE, Naranjo EB, Bustamante R, Salas AL. Manual para el uso y manejo de animales de laboratorio. Rata y Ratón. UNAM, FQ. México, 2001.
19. Gonzalo JM, Ávila I, San Ramón F, Orden A, Sánchez-Valverde MA. Cirugía veterinaria. Editorial Interamericana McGraw-Hill. España, 1994. pp. 445-481, 605-619.
20. Goth A. Farmacología Clínica. Editorial Médica Panamericana. México, 1990. Pp. 383.
21. Green CJ. Animal Anaesthesia. Laboratory animal Handbook. Londres, 1979. pp. 23-27, 53-84.
22. Harkness JE, Wagner JE. The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents. 2ª. Edición. Editorial Iowa State University Press/AMES. USA, 1999. pp. 58-65, 81, 92-93.
23. Hawk CT, Leary L. Formulary for Laboratory Animals. 2ª. Edición. Editorial Iowa State University Press/AMES. USA, 1999.

24. Howard ME. Modern Drug Encyclopedia and Therapeutic Index. Drug Publications, INC. N.Y., 1952. pp. 88
25. Hrapkiewicz K, Medina L, Colmes DD. Clinical Laboratory Animal Medicine: An Introduction. Editorial Iowa State University Press/AMES. USA, 1998. pp. 3-31.
26. Katzung BG. Farmacología Básica y Clínica. Capítulos 2. Receptores de Fármacos y farmacodinamia. Bourne HR, Von Zastrow M. y 25. Anestésicos generales. Trevor AJ, Miller RD. 9a. Edición. Editorial El Manual Moderno. México, 2005. pp. 29-31 y 403-404.
27. Koizumi T, Maeda H, Hioki K. Sleep-Time variation for Ethanol and the Hypnotic Drugs Tribromoethanol, Urethane, Pentobarbital, and Propofol within Outbred ICR mice. *Exp Anim.* 2002; 51(2): 119-124.
28. Krasowski MD, Harrison NL. The actions of ether, alcohol and alkane general anaesthetics on GABAA and glycine receptors and the effects of TM2 and TM3 mutations. *Br J Pharmacol.* 2000; 129. 731-743.
29. Leung C, Chan K, Poon R, O'Brien PJ. Role of carbonyl metabolizing enzymes in the anesthesia and hepatotoxicity induced by chloral hydrate and tribromoethanol in vivo and in vitro. *Enzymol Mol Biol Carbonyl Metab.* 2006; 171-180, 208-216.
30. Levine RR. Levine's pharmacology: drug actions and reactions. Capítulos 7. General principles of the quantitative aspects of drug action, y 9. Factors modifying the effects of drugs in individuals . 4a. Edición. Editorial Little Brown & Co., Boston, 1991. pp. 169-203, 241- 259.
31. Lewis RJ. Hawley's Condensed Chemical Dictionary. 14a. Edición. John Wiley & Sons, INC. USA, 2001. pp.583-584, 1117.
32. Lieggi CC, et al. An Evaluation of Preparation Methods and Storage Conditions of Tribromoethanol. *Contemp Top Lab Anim Sci.* 2005, Jan; 44(1): 11-16.
33. Lieggi CC, et al. Efficacy and Safety of Stored and Newly Prepared Tribromoethanol in ICR mice. *Contemp Top Lab Anim Sci.* 2005, Jan; 44(1): 17-22.
34. Litter M. Farmacología Experimental y Clínica. 7ª. Edición. Editorial El Ateneo. Argentina, 1986. pp. 38-68.
35. MARTINDALE. The Extra Pharmacopeia. Edición 26. The Pharmaceutical PRESS. London, 1973. pp. 852-854.

36. Moreno L, Herrera A, Oyola L, Arroyo J, Marrufo L. Metabolismo de Hidrato de Cloral en ratas con insuficiencia hepática inducida por tetracloruro de carbono. *Rev perú med exp salud*. 2003; 20(4): 186-192.
37. Morgan GE, Mikhail MS. Anestesiología Clínica. 1a. Edición. Editorial El manual moderno. México, 1995. pp 3-16.
38. Nicol T, Vernon-Roberts B, Quantock DC. Protective effect of Oestregens against the toxic decomposition products of Tribromoethanol. *Nature*. Dec, 1965, 208:1098-1099.
39. Norma Oficial Mexicana NOM-068-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. SSA. México, 1999.
40. Norris ML, Turner WD. An evaluation of tribromoethanol (TBE) as an anaesthetic agent in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Lab Anim*. 1983; 17, 324-329.
41. Papaioannou VE, Fox JG. Efficacy of Tribromoethanol Anesthesia in Mice. *Lab Anim Sci*. 1993, Apr;43(2):189-92.
42. Plumb D. Veterinary Drug Handbook. 4a. Edición. Editorial Iowa State University Press/AMES. USA, 2002. pp. 644-648.
43. Reid WC, Carmichael KP, Srinivas S, Bryant JL. Pathologic Changes Associated with Use of Tribromoethanol (Avertin) in the Sprague Dawley Rat. *Lab Anim Sci*. 1999, Dec;49(6):665-7.
44. Ruesga ZE, Estrada GJ. Cronobiología. Su aplicación en Cardiología. *Revista Mexicana de Cardiología*. 1999, Oct-Dec; 10(4): 143-145.
45. Santos RS. "Avertin" in the treatment of pre-eclampsia and eclampsia. *J Med*. 1963; 50, 1072-4.
46. Smith JN, Williams RT. The metabolism of aliphatic alcohols. The glucuronic acid conjugation of chlorinated and some unsaturated alcohols. *Department of Biochemistry, St Mary's Hospital Medical School, London, W. 2*. 1953, Nov; 18, 618-651.
47. Soma LR. Textbook of veterinary anesthesia. Editorial The Williams & Wilkins Company. Baltimore, 1971. pp.4, 147.
48. Sterz R, Hermes M, Peper K, Bradley RJ. Effects of halogenated derivatives of ethanol on the nicotine acetylcholine receptor. *Physiol Inst*. 1981; 230 (1-2): 434-8.

49. Sumano H. *Farmacología Veterinaria*. Capítulo 29. 3a. Edición. Editorial Mc Graw-Hill. México, 2006. pp. 601-603.
50. Toropov AA, Duchowicz P, Castro EA. Structure–Toxicity Relationships for Aliphatic Compounds Based on Correlation Weighting of Local Graph Invariants. *Int J Mol Sci*. 2003, April; 4, 272-283.
51. Weiss J, Zimmerman F. Tribromoethanol (Avertin) as an anaesthetic in mice. *Laboratory Animals*. 1999. 33, 192-193.
52. Westhues M. *Animal Anaesthesia*. Editorial The Williams & Wilkins Company. Edinburgo, 1964. pp. 79, 147-149, 153-161.
53. William VL, Wynn ES. *Veterinary Anesthesia*. Editorial Lea & Febiger. Philadelphia, 1984. pp. 199-211, 279-305.
54. Wiseman HM, Hampel G. Cardiac Arrhythmias due to chloral hydrate poisoning. *Br Med J*. 1978, Dec; pp.960.
55. Zeller W, Meier G, Burki K, Panoussis B Adverse Effects of Tribromoethanol as Used in the Production of Transgenic Mice. *Lab Anim*. 1998, Oct;32(4):407-13.