



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**INDUCCION A LA INTERACCION FARMACOLOGICA
ENTRE DIAZEPAM Y FLUMAZENIL
(UN ANTAGONISTA DE LAS BENZODIACEPINAS)
EN RATON ALBINO.**

FALLA DE ORIGEN

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :
MONICA PATRICIA ORTIZ MAGANDA

ASESOR: OFB. MA. EUGENIA POSADA GALARZA

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO.

1995



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 está 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



Departamento de
Exámenes Profesionales

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:
"Inducción a la interacción Farmacológica entre Diazepam y Flumazenil
(un antagonista de las Benzodicepinas) en ratón albino".

que presenta la pasante: Mónica Patricia Ortiz Maganda
con número de cuenta: 8754061-9 para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 8 de Junio de 1994

PRESIDENTE	Q.F.B. Maricela Noé Martínez	<i>[Firma]</i>
VOCAL	Q.F.B. Ma. Esther Revuelta Mirania	<i>[Firma]</i>
SECRETARIO	Q.F.B. Ma. Eugenia H. Posada Galarza	<i>[Firma]</i>
PRIMER SUPLENTE	Q.F.B. Virginia Oliva Arellano	<i>[Firma]</i>
SEGUNDO SUPLENTE	Q.F.B. Lidia Rangel Trujano	<i>[Firma]</i>

UAE/DEP/VAP/01

FALLA DE ORIGEN

AGRADECIMIENTOS

Quiero dar las gracias a todas las personas que me ayudaron de uno u otro modo para poder realizar este trabajo.

Me gustaría agradecer de manera particular al Q.F.B. Héctor Woss por su valiosa ayuda en cuanto a estadística se refiere.

Así mismo quiero agradecer a los Laboratorios Roche, S.A. por su generosa donación, sin la cual hubiese sido difícil realizar este trabajo.

A todos ustedes nuevamente "Mil Gracias"

DEDICATORIAS

A ti Papi y a ti Mami porque gracias a su esfuerzo, dedicación, sacrificios y sobretodo su amor, han hecho de mi lo que soy.

Los quiero mucho.

A Beto, Adriana, Martha, Norma y Lalo con todo mi cariño por hacer más sencilla mi vida y ayudarme a crecer.

A Dany y Abril gracias por la alegría que han traído a mi vida.

A la maestra Maru, con mucho cariño por su apoyo, sus consejos, su confianza y sobretodo por su paciencia.

A mis amigos: Bety, Lety, Mireya, Graciela, Cecy, Isela, Remi, Celso y Enrique, por compartir conmigo los buenos y los malos momentos

Los quiero mucho.

INDICE

RESUMEN	
INTRODUCCION	1
OBJETIVO	3
CAPITULO 1 GENERALIDADES	4
1.1 Interacciones Farmacológicas	4
1.2 Benzodiazepinas	8
1.3 Descripción Farmacológica del Diazepam	16
1.4 Descripción Farmacológica del Flumazenil	18
CAPITULO 2: INTERACCION FARMACOLOGICA DEL DIAZEPAM-FLUMAZENIL	23
2.1 Antecedentes	28
2.2 Mecanismo de Acción	30
2.3 Implicaciones Terapéuticas	
CAPITULO 3: MATERIAL Y METODO	31
3.1 Material	31
3.2 Modelo Experimental	32
CAPITULO 4: RESULTADOS	35
4.1 Tablas de Resultados	35
4.2 Observaciones	38
4.3 Analisis de Resultados	38
4.4. Interpretación de Resultados	40
CONCLUSIONES	42
COMENTARIOS	43
BIBLIOGRAFIA	44

RESUMEN

En el presente trabajo fue propiciada la interacción farmacológica entre el diazepam y el flumazenil (antagonista específico de las benzodiazepinas) para lo cual se trabajó con ratones de raza albina divididos en cuatro lotes, tratados con diazepam, flumazenil, diazepam y flumazenil y el cuarto permaneció como control. El flumazenil se probó empleando dos distintas dosis.

Los parámetros evaluados durante la experimentación para determinar el efecto depresor de la benzodiazepina (diazepam) fueron: disminución de la movilidad del animal, relajación del tono muscular, pérdida de reflejo palpebral y de enderezamiento, etc., así como también se determinó el tiempo de duración de tales efectos en ausencia y en presencia del antagonista.

Los resultados obtenidos evidencian la acción antagonista existente entre el diazepam y el flumazenil, la cual además se comprobó estadísticamente, es decir que, las diferencias encontradas en los tiempos de duración del efecto depresor del diazepam entre los sujetos administrados sólo con la benzodiazepina y los administrados además con el antagonista pueden ser explicadas por un efecto bloqueador ejercido por éste último en los sitios receptores de la benzodiazepina.

Un aspecto importante radica en la dosis de flumazenil empleada para revertir o bloquear el efecto del diazepam ya que se observó que al incrementar la dosis de antagonista su acción bloqueadora se ve incrementada, lo cual se traduce en una reducción del tiempo de recuperación de los sujetos de estudio.

En esta forma se llegó a la conclusión de que el flumazenil resulta ser un antagonista eficiente para revertir los efectos del diazepam, hecho que resulta importantísimo desde el punto de vista clínico y terapéutico en lo que a intoxicaciones se refiere; de la misma manera este es un ejemplo claro de los beneficios que puede traer consigo la terapia combinada cuando las interacciones inducidas se realizan de manera consciente y conociendo las características farmacológicas de cada uno de los fármacos involucrados.

INTRODUCCION

El estudio de las interacciones medicamentosas ha cobrado auge durante los últimos años y la importancia de éstas se hace evidente dentro de la práctica clínica dada la frecuencia de regímenes terapéuticos que involucran mas de un fármaco; así el conocimiento detallado de todos y cada uno de los fármacos involucrados dentro de un tratamiento por parte del cuerpo de salud, permite el manejo y combinación farmacológica racional y consciente, siendo entonces las terapias combinadas alternativas importantes para lograr el éxito de un tratamiento. (34)

Se entiende por interacción farmacológica a la modificación del efecto farmacológico de un medicamento por la acción de otro administrado de manera simultánea. (3) Cuando el resultado de la interacción deriva en un aumento del efecto de alguno de los fármacos involucrados el fenómeno se describe como sinergismo, mientras que si el resultado es una disminución o supresión del efecto farmacológico de alguno de los fármacos el fenómeno se denomina antagonismo. (3) (7) (33) (45)

Las interacciones farmacológicas pueden ser provocadas de manera intencional con fines terapéuticos y un ejemplo claro resulta de la acción antagonica observada entre ciertos fármacos, siendo este hecho de gran importancia dentro de la práctica clínica en lo que a intoxicaciones se refiere. (3) (45)

Actualmente muchos casos de intoxicación son debidos a sustancias depresoras del Sistema Nervioso Central (SNC) dado que las presiones cotidianas y el ritmo de vida tan acelerado que se vive actualmente han provocado el uso indiscriminado de sustancias sedantes y/o ansiolíticos para aliviar trastornos como la ansiedad emocional, insomnio, etc. (31)

El grupo de las benzodiazepinas es uno de los grupos de sedantes-ansiolíticos mas ampliamente utilizados dadas sus características y amplio margen de seguridad, sin embargo su popularidad resulta un arma de dos filos ya que la intoxicación accidental o intencional con ellas es actualmente un grave problema, por ello la búsqueda de nuevos fármacos que contrarresten los efectos de estos depresores del sistema nervioso resulta imprescindible. (3) (31) (34)

Recientemente se cuenta con el primer antagonista específico de las benzodiazepinas, el *flumazenil* que es una imidobenzodiazepina cuyo efecto es debido a la competencia por receptores benzodiazepínicos específicos.⁽¹⁹⁾⁽¹⁴⁾ El uso principal de este antagonista es revertir los efectos depresores no deseados provocados por las benzodiazepinas, como es la sedación excesiva o prolongada sobre todo en los casos de sobredosis.^{(15) (22) (23)}

La interacción establecida entre las benzodiazepinas y el *flumazenil* constituye un claro ejemplo de los beneficios que representan las interacciones farmacológicas cuando la inducción de éstas se realiza de manera consciente, tomando en cuenta las características de cada fármaco así como sus propiedades fisicoquímicas y farmacológicas.⁽¹⁴⁾

En el presente trabajo se pretende inducir a la interacción farmacológica *diazepam-flumazenil* en ratones y establecer la eficiencia de este último como antagonista específico para contrarrestar los efectos de la benzodiazepina en cuestión, siendo dicho efecto de gran importancia en los casos de intoxicación con este tipo de fármacos.

OBJETIVO

Inducir experimentalmente la interacción farmacológica diazepam-flumazenil en ratón albino, estableciendo la eficiencia de éste último como antagonista.

CAPITULO 1

GENERALIDADES

1.1. INTERACCIONES FARMACOLOGICAS

Surge una interacción farmacológica cuando la acción profiláctica, terapéutica o diagnóstica de un fármaco se modifica dentro o en la superficie del organismo, por acción de un segundo fármaco. La acción de los interactuantes puede aumentar, disminuir o anularse, lo que puede traer como consecuencia el fracaso de la terapia, que surja una reacción adversa o bien beneficiar una terapia.⁽¹⁾

Durante la última década se ha hecho mas evidente que los efectos de diversos fármacos, cuando son administrados en forma simultánea no son necesariamente previsibles sobre la base del conocimiento de sus efectos al ser administrados solos, ⁽²⁾ no obstante cada uno de ellos puede afectar al resto en forma favorable o desfavorable,tales interacciones pueden tener trascendencia cuando el margen de seguridad de uno o más de los fármacos es pequeño. En esta forma se considera que las interacciones medicamentosas de importancia clínica pueden verse reducidas evitando las combinaciones de fármacos cuya incompatibilidad es conocida. Sin embargo es el conocimiento por parte del médico sobre la bibliografía clínica y su comprensión acerca de los mecanismos causantes de las interacciones entre los fármacos, lo que contribuirá a evitarlas ⁽³⁾, permitiendo con ello minimizar o prevenir la toxicidad de los fármacos involucrados en la terapéutica, ya sea ajustando la dosis, el horario de administración o eligiendo una nueva alternativa medicamentosa.⁽⁴⁾

Los fármacos son administrados y los efectos terapéuticos o tóxicos son el resultado de sus interacciones con moléculas corporales específicas alterando su actividad bioquímica y biofísica y en consecuencia modulan la respuesta del organismo. ⁽⁵⁾

Así se habla de sustancias receptoras las cuales son definidas como el componente de una célula u organismo que interactúa con un fármaco y que inicia una cadena de fenómenos bioquímicos que originan los efectos observados tras la administración del fármaco.⁽²⁷⁾ El concepto de receptor resulta esencial para explicar diversos mecanismos de regulación biológica, asimismo tiene aplicaciones de importancia en el desarrollo de medicamentos y en la toma de decisiones terapéuticas en la práctica clínica las cuales son resumidas en los siguientes puntos:

- a) Receptores que determinan las relaciones cuantitativas entre la dosis o concentración de un medicamento y sus acciones farmacológicas.
- b) La selectividad de acción de los fármacos depende de los receptores (tamaño molecular, configuración, carga eléctrica, etc.)
- c) Los receptores modulan las acciones de los antagonistas farmacológicos, siendo algunos de los antagonistas más útiles en medicina clínica fármacos que pertenecen a este grupo.⁽²⁷⁾

En esta forma, la existencia de los receptores farmacológicos con estructuras similares o no explica el hecho de las interacciones farmacológicas.⁽²⁷⁾

En términos generales las interacciones farmacológicas pueden dividirse en dos grandes grupos : farmacocinéticas y farmacodinámicas.⁽³⁾

Las interacciones farmacocinéticas son aquellas que se presentan durante la fase farmacocinética de los medicamentos, mientras que las farmacodinámicas afectan la respuesta de un compuesto una vez que éste ha llegado a su sitio de acción; la alteración puede darse en el sitio receptor o bien alterar la respuesta modificando el medio fisiológico.⁽³⁾

Este tipo de interacciones se da principalmente en el sitio receptor ya sea en el mismo o en diferentes receptores y el resultado de éstas puede dar lugar a los fenómenos de sinergismo o antagonismo.^{(3) (1)(20)}

1.1.1 SINERGISMO

Cuando el resultado de la interacción entre dos medicamentos origina un aumento del efecto de alguno de ellos se habla de sinergismo, el cual generalmente se presenta cuando se trata de compuestos de acción farmacológica similar. El sinergismo puede presentarse mediante cuatro mecanismos:

- a) **Sinergismo infra-aditivo:** Se refiere al efecto resultante de la interacción de dos o más compuestos con efecto farmacológico similar, los cuales interactúan con los mismos sitios receptores pero el grado de efecto es menor a la suma de los fármacos interactuantes de manera individual. (31) (32)
- b) **Sinergismo aditivo o de suma:** Se produce cuando dos fármacos tienen el mismo efecto estudiado y cuya actividad intrínseca es la misma, se unen a los mismos sitios receptores de forma tal que al administrarlos de manera conjunta producen un efecto mayor en el individuo dada la suma de los efectos producidos por cada uno de ellos de manera individual. (7)
- c) **Sinergismo de potenciación:** Se produce generalmente cuando los fármacos involucrados reaccionan con distintos receptores para producir sin embargo el mismo efecto, de manera que el efecto farmacológico se ve incrementado. (7) (31)
- d) **Sinergismo de supersensibilidad:** Se refiere a casos complejos cuya interpretación varía, no obstante se sabe que ciertos fármacos aumentan o facilitan la acción de otros sobre el sitio efector por mecanismos variados, aunque este "facilitador" no tenga por sí mismo efecto farmacológico. (31)

1.1.2 ANTAGONISMO.

Si el efecto producido por un fármaco se ve disminuido o suprimido por un segundo fármaco, la interacción resultante se conoce como antagonismo, pudiendo ser éste dividido en tres categorías:

- a) **Antagonismo competitivo:** Se produce cuando una sustancia (fármaco) de estructura química semejante al agonista se fija en los mismos sitios receptores de aquél, pero siendo inactivo o de efecto contrario. Esto es, que las sustancias compiten por un mismo receptor. Este tipo de antagonismo es el más frecuente en la clínica, el cual a su vez puede ser de dos clases de acuerdo al tipo de enlace formado entre el antagonista y el receptor. Si el enlace es débil, el antagonismo se denomina "competitivo reversible", este antagonismo puede ser superable, es decir, que cualquiera de los fármacos puede ser desplazado del receptor con altas concentraciones del otro. (p1) Por otra parte, si el enlace fármaco-receptor es covalente (enlace químico muy estable) no resulta fácilmente reversible, por lo que se denomina "antagonismo competitivo irreversible". (p1) De esta forma el bloqueo no puede ser remontado aunque la concentración del agonista se incremente; así, para ser reversible este tipo de antagonismo es preciso recurrir a medios indirectos. (p1)(11) (45)
- b) **Antagonismo no competitivo:** Ocurre entre dos fármacos de estructura química diferente y que por lo tanto ocupan dos clases distintas de receptores, pero que dan lugar a efectos opuestos y en consecuencia se anulan mutuamente. Es un antagonismo insuperable porque el antagonista, al ocupar el receptor correspondiente, aunque no impide que el agonista ocupe el suyo, sí interfiere en la producción de la respuesta, la cual es disminuida y aún anulada; esto es, que el antagonista disminuye la actividad intrínseca del agonista. (p1) (11)
- c) **Dualismo competitivo:** Si uno de los fármacos posee menor actividad que otro, al ser administrados de manera conjunta, será un agonista parcial; al aplicar pequeñas dosis del agonista completo se obtiene un sinergismo de suma, mientras que a concentraciones mayores del mismo, lo que resulta es un antagonismo competitivo, dado que el antagonista parcial desplaza al antagonista completo de los receptores y como su actividad intrínseca es menor, la respuesta también lo será. Así el antagonista parcial ejerce una acción dual, como agonista y/o como antagonista competitivo.

Con base en lo anterior las interacciones farmacológicas pueden ser provocadas intencionalmente con fines terapéuticos, por ejemplo el efecto de sinergismo producido entre ciertos fármacos hace posible reducir la dosis de alguno de ellos al administrarlos de manera conjunta, reduciendo con ello efectos indeseables y/o tóxicos y al mismo tiempo prolongar la duración del efecto deseado con dosis menores. De igual forma la acción antagonista entre fármacos resulta fundamental en los casos de intoxicación ya sea accidental o intencional, por su uso como "antídotos". (3)

Las interacciones farmacológicas en sí mismas pueden o no ser peligrosas, sin embargo la ignorancia o la incapacidad para reconocerlas suelen ser mucho más peligrosas (3). Las interacciones farmacológicas resultan ser un arma de dos filos, ya que pueden ser utilizadas racionalmente con fines benéficos para la terapia sobre bases bibliográficas adecuadamente entendidas o por el contrario pueden tener consecuencias fatales por el uso de información mal entendida o simplemente por desconocimiento de la misma. Así el estudio de estos fenómenos debe ser tarea primordial de los profesionales de la salud. (3)

1.2 BENZODIACEPINAS

1.2.1 ASPECTOS GENERALES

En el tratamiento de alteraciones orgánicas y emocionales con frecuencia se requiere el uso de medicamentos capaces de deprimir el sistema nervioso central, cuya finalidad es disminuir la excitación y ansiedad sin causar sueño excesivo, (17) siendo el uso de ansiolíticos un importante progreso en la práctica clínica. (31)

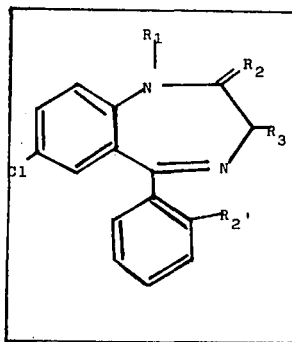
Los ansiolíticos son fármacos que poseen efecto calmante de la hiperexcitabilidad nerviosa, sin mayor embotamiento de la conciencia y sin mayor tendencia al sueño con las dosis usuales, son depresores selectivos del sistema nervioso central. (31) Este tipo de fármacos son aplicables en neurosis sobre todo cuando existen tensión y ansiedad, poseen algunas características de los sedantes por lo que son denominados "tranquilosedantes o ansiolíticos". (31) Las benzodiazepinas se encuentran comprendidas dentro de este grupo de fármacos. (17)

Las benzodiazepinas fueron introducidas en clínica en 1961 (1) y actualmente gozan de gran popularidad y por ende son utilizadas ampliamente en este campo. (31)

La benzodiazepina es un sistema anular heterocíclico formado por la unión de un anillo bencénico y un anillo heptagonal que contiene dos átomos de nitrógeno, (31). (Figura 1)

FIGURA No. 1

Fórmula estructural de la Benzodiazepina



La figura muestra la estructura de la benzodiazepina donde R1, R2, R3 y R son los distintos radicales que pueden unirse a ella.(31)

Desde el punto de vista estructural los compuestos activos pertenecen a dos grupos, el primero integrado por el clordiazepóxido y el segundo formado por el resto de las benzodiazepinas, que pertenecen al grupo de las 1,3-dihidro-2-cetonas.(3)

Todos los derivados diazepínicos son de origen sintético entre los cuales existen cambios de estructura química. (Ver cuadro número 1) (31) mismas que determinan las diferencias, en ocasiones importantes, en las propiedades fisicoquímicas, farmacológicas y farmacocinéticas especialmente, así como las características de fijación a tejidos y a receptores.(39) De esta manera es posible explicar el hecho de que dentro del grupo existen algunas benzodiazepinas que son especialmente hipnóticas.

Los cambios estructurales modican la unión a receptores siendo el orden de unión a sinaptosomas: midazolam, clonazepam, lorazepam, flunitrazepam, diazepam, nitrazepam, flurazepam, bromazepam, oxazepam, clordiacepóxido y medazepam.⁽³⁶⁾ Asimismo las modificaciones estructurales pueden dar lugar a grandes cambios fisicoquímicos, por ejemplo en el pka, dado que la proporción de las formas ionizada y no ionizada de los fármacos determina su velocidad de absorción en el tracto digestivo, así como su penetración através de la barrera hematoencefálica.

(36) (17)

En los animales las benzodiazepinas disminuyen la actividad motora, teniendo efectos tranquilizantes; a dosis altas pueden llegar a producir ataxia, sedación e incluso la muerte por parálisis respiratoria. En el hombre son activas en estados de ansiedad, tensión e insomnio, la reducción de la ansiedad se acompaña de cierta relajación muscular. Actúan principalmente en los neuróticos; pueden llegar a ocasionar sueño sin llegar a la anestesia general cuando son administrados por vía intravenosa. De igual forma pueden producir somnolencia y estado de ebriedad sin que existan manifestaciones extrapiramidales. (22) (27) (31)

Los efectos farmacológicos de las benzodiazepinas están relacionados con la dosis; entre mayor sea ésta la latencia será mas breve mientras que la intensidad y duración del efecto se incrementa.⁽³⁶⁾ Otra consideración importante es el alto grado de combinación de estos fármacos con proteínas y dado que es bien conocido que únicamente el fármaco libre atraviesa la barrera hematoencefálica, entonces podemos asegurar que cifras menores de seroalbúmina permiten una mayor proporción de fármaco libre con disponibilidad para entrar a cerebro, reduciendo con ello el tiempo de inducción. (37)

1.2.2. FARMACOCINETICA

Las distintas benzodiazepinas poseen acciones farmacológicas similares, siendo las diferencias entre ellas especialmente en relación a su farmacocinética. (37) (38)

Las benzodiazepinas de manera general son absorbidas con facilidad tanto por tracto digestivo como por vía parenteral, sin embargo estudios comparativos muestran que la absorción de éstos fármacos varía de acuerdo a sus características estructurales.⁽³⁸⁾

La biotransformación varía también para las diversas benzodiazepinas siendo esto de especial interés por varias razones; en primer lugar dicho proceso es llevado a cabo en hígado y la depuración hepática intrínseca constituye el paso limitante en la depuración total de la mayor parte de estos compuestos. En segundo lugar, la transformación de los pro-fármacos determina su actividad farmacológica, es decir, el compuesto original inactivo se convierte en un metabolito activo. La biotransformación de ciertos fármacos originalmente activos en metabolitos también activos contribuye en forma considerable a los efectos netos; finalmente existen dos vías fundamentales para la biotransformación de las benzodiazepinas:

1) Reacciones de óxido-reducción y 2) Reacciones de conjugación. (31) (32)

Algunas observaciones referentes a la biotransformación de las benzodiazepinas establecen que los compuestos sin sustitución en la posición 3 se biotransforman por reacciones de óxido-reducción en hígado mientras que las 3-hidroxibenzodiazepinas presentan conjugación a glucurónidos. (33)

La desaparición del plasma por parte de estos compuestos sigue una cinética de primer orden. (34) Generalmente la farmacocinética de las benzodiazepinas no es modificada por la vía de administración, dosis o duración del tratamiento, sin embargo si son importantes las variaciones interindividuales en su disponibilidad, las cuales se hacen evidentes en la vida media de eliminación. (35)

Los fármacos y sus metabolitos son excretados en su mayor parte en orina (aproximadamente en un 70-90%) y el resto en heces. (36)

Existen una serie de factores fisiológicos, farmacológicos, patológicos e incluso ambientales capaces de modificar la farmacocinética de este importante grupo de sedantes. Dichos factores pueden ser observados en el cuadro No.2. (37)

CUADRO No. 2

Factores que modifican la farmacocinética de las benzodiazepinas (Depuración y vida media de eliminación)

	Edad	Sexo	Tabaquismo	Inhibición enzimática	Enfermedad hepática	Enfermedad renal
Clordiazepóxido	Sí	Sí	No	Sí	Sí	?
Diazepam	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
Desmetildiazepam	Sí	Sí	?	Sí	Sí	?
Flunitrazepam	Sí	?	?	?	?	?
Lorazepam	No	No	Sí	No	Sí/No	No
Midazolam	Sí	?	?	?	?	No
Oxazepam	No	Sí	Sí	No	No	Sí/No

(29)

- Sí = efecto significativo.
 No = efecto no significativo.
 Sí/No = influencia sobre T_{1/2} pero no sobre depuración.
 ? = datos incompletos ó no concluyentes.

1.2.3 MECANISMO DE ACCION

El mecanismo de acción de las benzodiazepinas constituyó un enigma hasta 1974 en que mediante estudios electrofisiológicos principalmente, se concluyó que la acción ansiolítica de estos fármacos se debe a una acción depresora sobre el sistema activador ascendente reticular y principalmente sobre los centros del sistema límbico, dicho efecto depresor de la actividad neuronal obedece al reforzamiento selectivo de la transmisión sináptica GABAérgica en la mayoría de las regiones del sistema nervioso central. (8) (13)

La investigación sobre el mecanismo molecular del efecto benzodiazepínico llevó al descubrimiento de los receptores de tales fármacos. (24)

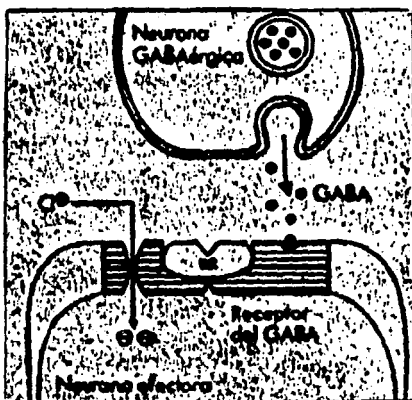
Se ha demostrado la existencia de sitios de unión específicos para las moléculas de las benzodiazepinas en diversas regiones del encéfalo, incluyendo la corteza cerebral, mesencéfalo e hipocampo. (18) (37)

La densidad de la unión varía en las distintas partes del sistema nervioso central, la mayor densidad corresponde a la corteza cerebral, en el hipocampo la densidad es mediana, mientras que en el puente y bulbo raquídeo es relativamente baja. Se ha observado que los receptores benzodiazepínicos se localizan en el cuerpo celular y prolongaciones de las neuronas. (10) (43)

Estudios recientes (44) muestran que tales receptores se localizan en sitios adyacentes a los receptores para Acido gamma aminobutírico. La interacción de las benzodiazepinas con tales receptores conduce a la facilitación de los efectos inhibitorios del GABA. (27). Se sabe que GABA no compite por los receptores de las benzodiazepinas, sin embargo pequeñas concentraciones de aquél, estimulan los receptores incrementando así la afinidad de las benzodiazepinas por ellos. Los receptores del GABA acoplados a los receptores benzodiazepínicos y un canal para iones cloruro forman una unidad morfológica y funcional denominada "Receptores GABA_A" los cuales predominan dado que su densidad en cerebro supera ampliamente a la de los receptores GABA_B (no acoplados a canales clóricos) que poseen otra especificidad de unión a ligandos agonistas y antagonistas. (6) En la figura No. 2 se observa de manera simple la estructura y funcionamiento de una sinápsis GABAérgica. (26) (19) (22)

Figura No. 2

Representación Esquemática de una Sinápsis GABAérgica



En el esquema se observa que la excitación presináptica de la sinápsis GABAérgica induce a la liberación del GABA a la neurona sináptica. El neurotransmisor difunde a la membrana postsináptica, donde es reconocido y fijado por el receptor del GABA. La interacción ligando-receptor desencadena un cambio conformacional del receptor, lo que conduce a la apertura del canal clórico. En este proceso puede incidir un componente modulador del complejo: "Receptor Benzodiazepínico" y la ocupación de éste por un agonista benzodiazepínico refuerza la transmisión GABAérgica debido a un incremento de la afinidad del receptor del GABA por dicha substancia. (4) (19) (25)

La distribución inmunohistoquímica de los receptores del GABA son concordantes con la distribución de los receptores benzodiazepínicos, lo cual es coherente con lo expuesto en la figura No. 2 (43)

Los receptores benzodiazepínicos son descritos como receptores centrales, sin embargo se ha observado la existencia de un importante subgrupo de éstos que se encuentra en diversos tejidos, denominados "receptores periféricos", mismos que poseen una entidad molecular diferente a la encontrada en los receptores centrales. En estudios diversos es evidente que la existencia de los receptores explica el porque las benzodiazepinas pueden ocasionar alteraciones en distintos órganos, incluso modificar la secreción de un gran número de hormonas, lo cual debe tomarse en cuenta a fin de evitar reacciones indeseables en la terapéutica. (9) (44)

Otros estudios revelan que la combinación existente entre los receptores del GABA y de las benzodiazepinas está estrechamente relacionada con la actividad hipnótica de las últimas, dado que ha sido observado que tales receptores juegan un papel importante en la regulación fisiológica y farmacológica para inducir al sueño. La hipótesis al respecto establece que si el efecto de GABA en los receptores benzodiazepínicos está relacionado con el efecto hipnótico, puede entonces existir una correlación entre la modulación de GABA sobre los receptores benzodiazepínicos y la potencia hipnótica de los fármacos en cuestión. (13)

No todas las benzodiazepinas poseen actividad hipnótica, sólo el flurazepam, diazepam, temazepam, clorazepam y clordiazepóxido, los cuales son capaces de producir anestesia general por vía intravenosa de manera que pueden considerarse como fármacos de transición entre los depresores nerviosos no selectivos y selectivos. (31) (36)

Los resultados de diversos estudios concluyen que la acción hipnótica involucra una estructura supramolecular constituida por receptores del GABA adyacentes a los receptores benzodiazepínicos. (13)

Existe evidencia acerca de la existencia de gran actividad por parte de sitios de reconocimiento de benzodiazepinas en el sistema nervioso central, mediando así las actividades ansiolítica, anticonvulsiva y relajante con la mínima neurotoxicidad. (12) (42) (44)

1.2.4 USOS Y CONTRAINDICACIONES

Las benzodiazepinas son indicadas como ansiolíticos en casos de ansiedad, tensión nerviosa o emocional, histeria, fobias, estados depresivos y trastornos emocionales (1); pueden contrarrestar convulsiones y son aplicables para reforzar la anestesia superficial, cirugía dental y algunos procedimientos diagnósticos. (12)

A dosis elevadas las benzodiazepinas pueden provocar manifestaciones nerviosas tales como somnolencia, ataxia, mareos, pérdida de la memoria, astenia, etc. (31) Asimismo pueden presentarse alteraciones hemáticas, reacciones alérgicas y gastrointestinales mismas que ceden con la supresión del medicamento o bien disminuyendo la dosis del mismo. (21) (1)

La combinación de las benzodiazepinas con bebidas alcohólicas u otros fármacos depresores del sistema nervioso debe evitarse, ya que su efecto depresor puede verse incrementado de manera importante, llegando incluso a la intoxicación. (31) (26) (21) (22)

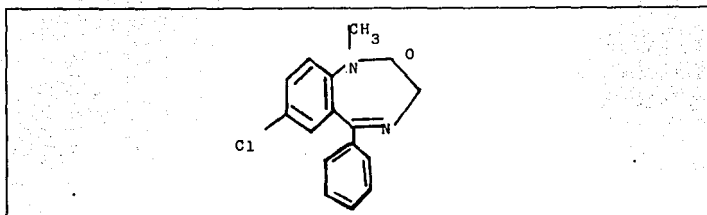
1.3 DESCRIPCIÓN FARMACOLÓGICA DEL DIAZEPAM

Dentro del grupo de las benzodiazepinas el diazepam es el fármaco más representativo y más ampliamente estudiado. Este compuesto pertenece al grupo de las 1,3-dihidro-2-cetonas.

El diazepam (7-cloro-1,3-dihidro-1-metil-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona) fue sintetizado por primera vez en 1959 (17) y utilizado en la clínica poco más tarde (1961). (Figura No. 3) (1) (3)

FIGURA No.3

Fórmula Estructural del Diazepam



Este compuesto es un sólido cristalino, de carácter básico e insoluble en agua. El halógeno (grupo electronegativo) sustituido en la posición 7, le confiere al fármaco sus propiedades ansiolíticas, mismas que se ven favorecidas por la no sustitución de grupos metilo en C3 dado que la sustitución se da en el nitrógeno número 1. (3)

El diazepam es absorbido rápidamente tras su ingestión y término de dos horas se alcanzan niveles máximos en sangre. Su desaparición de torrente sanguíneo sigue dos fases, la primera con una vida media corta y la segunda de 20-50 horas. (3) El fármaco se une mejor a proteínas plasmáticas que el clordiazepóxido y tiene una distribución relativamente lenta en comparación con otros fármacos utilizados para inducir a la anestesia. (32)

Después de la administración intravenosa de una dosis de 10-20 mg. se logra un estado de sedación profunda en aproximadamente 4 minutos, la recuperación ocurre en término de una hora, lo cual coincide con la disminución de sus niveles en sangre. (3)

El volumen de distribución del fármaco es grande (0.7-1.7 l/kg) lo que implica una amplia distribución en tejidos; la reducción en la unión a proteínas permite más fármaco libre para distribuirse en los tejidos disminuyendo diazepam total en plasma, incrementándose así el volumen aparente. Los metabolitos del diazepam son el desmetildiazepam y el oxazepam, ambos con actividad farmacológica. El primero se forma con lentitud y tiene una vida media de 96 horas. En condiciones de equilibrio, los niveles de desmetildiazepam son semejantes o mayores a los del diazepam. (3) En sujetos normales, la depuración total fluctúa entre 0.24 y 0.53 ml/kg y la del fármaco libre entre 28 y 44 ml/kg. (37) (32)

Existe una gran variedad de aplicaciones del diazepam en la práctica clínica, entre las que sobresalen:

Actividad ansiolítica, inductor del estado de anestesia, refuerzo de la anestesia superficial, sedación basal durante analgesia regional, anticonvulsivante y sedación durante procedimientos de diagnóstico. (1) (2)

Los efectos adversos que pueden presentarse después del uso del medicamento son:

- a) A nivel del sistema nervioso central puede ocasionar somnolencia, letargo, resaca y desvanecimientos. (21)
- b) En sistema cardiovascular produce hipertensión transitoria.
- c) En sistema gastrointestinal puede ocasionar vómito, náuseas y malestar abdominal.
- d) A nivel local puede producir descamación, dolor y/o flebitis en el sitio de aplicación, en caso de que ésta sea parenteral. (27)

Las intoxicaciones producidas por este medicamento generalmente presentan síntomas de confusión mental, coma, disminución de reflejos, hipotensión, depresión de los sistemas respiratorio y nervioso central. (21)

La dosis administrada al paciente debe determinarse tomando en cuenta los factores capaces de afectar significativamente la biodisponibilidad del fármaco, los cuales incluyen edad, sexo, raza, hábitos alimenticios, enfermedades, etc, reduciendo con ello el riesgo de intoxicación. (30) (21)

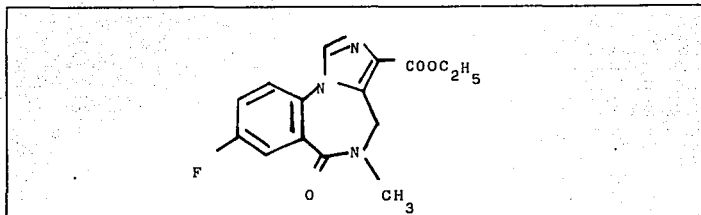
1.4. DESCRIPCION FARMACOLOGICA DEL FLUMAZENIL

El flumazenil [8-fluoro-5,6-dihidro-5-metil-6-oxo-4-H-imidazol (1,5-0) (1,4)-benzodiazepin-3-carboxilato de etilo] es una imidobenzodiazepina de reciente descubrimiento, que posee alta afinidad por receptores benzodiazepínicos, pero que a dosis bajas no ejerce efecto farmacológico alguno; este fármaco es el primer antagonista específico de las benzodiazepinas. (3) (Figura No.4)

(40)(20)

Figura No.4

Fórmula Estructural del Flumazenil



El fármaco tiene un peso molecular de 303.30, un punto de fusión de 200°C, posee un coeficiente de distribución (n-octano/tampon de fosfato acuoso a pH4) de 14, un pka de 1.7 y una solubilidad de 0.42 gr/lt en tampon de fosfatos a pH 7.4 (41)(47)

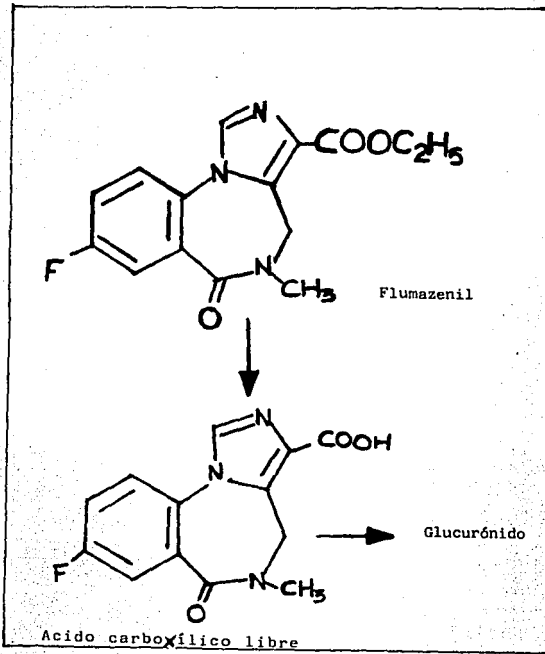
El flumazenil se difunde rápidamente en el organismo tras su inyección intravenosa, se ha observado que solo presenta una fase de distribución breve en la curva de concentración plasmática-tiempo en ciertos sujetos.(30) El volumen de distribución del fármaco es elevado (volumen medio en estado equilibrio, Vss:0.95 lt/kg) por lo que este difunde fuera de la circulación uniéndose probablemente a componentes hísticos, dado que dicho volumen es similar al de las benzodiazepinas estructuralmente afines. El flumazenil es una base lipófila débil que se une a proteínas plasmáticas moderadamente (≈50%) donde la unión de la albúmina constituye 2/3 partes de la fijación total. Por otra parte la fijación a proteínas por parte del fármaco no se ve modificada por la presencia de algunas benzodiazepinas aún en concentraciones muy elevadas. (41)(48)

El fármaco se metaboliza por completo en el organismo dado que no se detecta prácticamente flumazenil en la orina. Los metabolitos formados son el ácido carboxílico libre (formado por desdoblamiento del éster) y el glucurónido correspondiente del ácido carboxílico (Figura No.5); estos metabolitos se encuentran en un 90% en orina y el resto es eliminado en heces. (30)

El tiempo de excreción del flumazenil, es muy corto, tiene un aclaramiento plasmático medio (Cl pl) de 1 lt/min. Menos del 0.1% de la dosis administrada es eliminada en forma inalterada con la orina, es decir que el aclaramiento renal es desdñable.(30) Así, el elevado aclaramiento total puede ser atribuido enteramente al aclaramiento hepático. Su vida media de eliminación se ha calculado en menos de una hora (≈53 minutos). (23)(30)(41)

FIGURA No,5

Metabolismo del Flumazenil



En la experimentación animal la imidobenzodiazepina (flumazenil) ha demostrado antagonizar varios efectos de los agonistas benzodiazepínicos impidiendo o interrumpiendo su acción.⁽²⁾ El antagonismo del flumazenil es muy selectivo ya que únicamente es dirigido a aquellas sustancias que actúan a través de los receptores benzodiazepínicos.⁽²⁾⁽⁴⁾

El compuesto anula rápidamente y por completo los efectos farmacológicos que ejercen las benzodiazepinas en los animales, por lo que pueden presentarse síntomas de abstinencia cuando existe dependencia física por la administración prolongada de alguna benzodiazepina.⁽¹²⁾ La gravedad de estos síntomas depende de la especie animal, la dosis de agonista benzodiazepínico utilizada para crear la dependencia y la duración del tratamiento antes de administrar el flumazenil.⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾

La tolerancia al fármaco ha sido probada en diversas especies y los resultados obtenidos muestran que en general ésta es buena, dado que no produce cambios estadísticamente significativos en los parámetros vitales (presión arterial, frecuencia cardíaca y/o respiratoria, hematológicos) así como tampoco a nivel local.⁽⁶⁾ No se conoce ningún trastorno de la función renal o hepática.⁽⁴⁾⁽⁷⁾

Dentro de la práctica de la medicina intensiva, el flumazenil tiene importantes aplicaciones y está indicado:

- Para terminar la anestesia general inducida y mantenida con benzodiazepinas en pacientes hospitalizados.
- Para anular la sedación producida por benzodiazepinas en pacientes sometidos a procedimientos diagnósticos o terapéuticos cortos, ya sea en pacientes hospitalizados o ambulatorios.
- En cuidados intensivos permite diagnosticar o excluir intoxicaciones por benzodiazepinas.
- Permite diagnosticar en la inconciencia de etiología desconocida si ésta es debida a benzodiazepina, a otros fármacos o a una lesión cerebral.
- Como medio para eliminar los efectos centrales de las benzodiazepinas administradas a dosis elevadas y por lo tanto lograr una recuperación de la respiración espontánea y de la conciencia a fin de no tener necesidad de intubar o bien para proceder a la extubación.⁽⁸⁾⁽⁹⁾⁽²⁰⁾⁽⁴⁾⁽⁷⁾

La dosis recomendada para revertir la anestesia es de 0.2 mg. por vía intravenosa administrada durante 15 segundos, en caso necesario puede inyectarse una dosis máxima de 1 mg. Habitualmente la dosis se sitúa entre 0.3-0.6 mg.⁽⁴⁷⁾ En cuidados intensivos la dosis recomendada es de 0.3 mg siendo posible administrar hasta 2 mg.⁽⁴⁷⁾ Si el efecto de la acción farmacológica de las benzodiazepinas vuelve a presentarse debe proseguirse el tratamiento con una infusión intravenosa de 0.1-0.4 mg/hr ajustándose la velocidad de infusión en función al nivel de conciencia deseado.⁽⁴⁷⁾

Así el flumazenil resulta un importante avance en la clínica dado que es el primer antagonista específico de las benzodiazepinas, el cual es eficaz y bien tolerado.⁽¹²⁾⁽⁶⁾⁽⁴⁷⁾

CAPITULO 2

INTERACCION FARMACOLOGICA DEL DIAZEPAM-FLUMAZENIL

2.1 ANTECEDENTES

Las interacciones medicamentosas que ocurren con mayor frecuencia con los tranquilosedantes son las que se producen con sustancias depresoras del sistema nervioso central, dando lugar a efectos aditivos.⁽²⁷⁾

Es obvio que dichos efectos pueden predecirse con el uso de los tranquilosedantes combinados con bebidas alcohólicas, narcóticos, analgésicos, anticonvulsivos y otros depresores sedantes-hipnóticos, y quizá menos obvio pero igual de importante cuando se combinan con una variedad de antihistamínicos, antihipertensivos, y antidepressores del grupo de los tricíclicos.⁽²⁷⁾⁽³¹⁾ No obstante, las interacciones medicamentosas no siempre dan como resultado efectos aditivos, en muchos casos es posible observar un efecto antagónico, mismo que puede tener amplias aplicaciones dentro de los regímenes terapéuticos, sobre todo en casos de intoxicación.⁽³²⁾

Actualmente hay evidencias acerca de la existencia de compuestos con diversas estructuras químicas capaces de interactuar con los sitios de enlace de las benzodiazepinas y que son capaces de comportarse como agonistas o antagonistas de las mismas.⁽³²⁾

Avances mayores al respecto han llevado al descubrimiento de una serie de imidobenzodiazepinas que resultan ser potentes inhibidores de los enlaces 3H-diazepam en las fracciones sinaptosomales del cerebro, observándose que el "flumazenil" (Ro-15 1788) es un potente y selectivo inhibidor de los efectos neuroquímicos, bioquímicos conductuales y electrofisiológicos producidos por las benzodiazepinas, y especialmente del diazepam, en animales sin producción substancial de actividad farmacológica intrínseca. ^{(24) (26)}

La acción del flumazenil está cimentada en la propiedad que posee para desplazar de manera competitiva benzodiazepinas de los sitios receptores ⁽⁴⁰⁾ de manera que puede ser utilizado como:

- a) Antagonista directo de los efectos benzodicepínicos administrándolo después de una benzodicepina.
- b) Modificador de los efectos de las benzodicepinas administrándolo a la vez que una benzodicepina.
- c) Inhibidor de los efectos benzodicepínicos administrándolo antes que una benzodicepina.

El uso del flumazenil como antagonista directo es el de mayor énfasis dentro de la práctica clínica dada su trascendencia en anestesiología.⁽¹⁰⁾⁽⁹⁾

A dosis bajas la acción del flumazenil se limita al bloqueo reversible de los receptores benzodicepínicos, sin embargo a dosis elevadas han sido reportados efectos intrínsecos del tipo de agonismo parcial, en particular ha sido observado un efecto anticonvulsivo.⁽⁴⁾

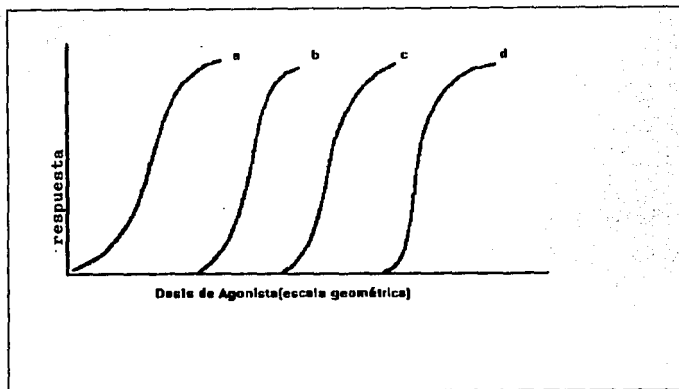
De la misma manera han sido reportados algunos efectos secundarios que no requieren de tratamiento especial y que disminuyen al ajustar la dosis.⁽⁶⁾⁽⁹⁾

La acción antagonista del flumazenil depende de su dosis, del tipo y dosis de la benzodicepina administrada, así como del tiempo transcurrido entre la administración de los fármacos.⁽¹²⁾ Asimismo la vida media del agonista determina la acción antagonista del flumazenil, cuya vida media es relativamente corta.^{(12) (10)}

Dado que tanto el diazepam como el flumazenil compiten por los mismos receptores ⁽¹⁰⁾ el efecto antagónico puede apreciarse de manera gráfica examinando curvas dosis-respuesta.⁽¹¹⁾ En la Figura No.6 se observa que el antagonista (flumazenil) desplaza la curva dosis-respuesta del agonista (diazepam) hacia la derecha conforme aumenta la dosis del antagonista. Así, la cantidad de agonista necesario para lograr la respuesta máxima es cada vez mayor con cada incremento en la dosis del antagonista presente.⁽¹¹⁾

FIGURA No.6

Gráfica dosis-respuesta del antagonismo competitivo



Curvas dosis-respuesta en ausencia de antagonista (a), y en presencia de antagonista en dosis crecientes (b, c, y d)(11)

Un detalle importante radica en el hecho de que la potencia antagonística del flumazenil se ve incrementada de manera significativa cuando el agonista benzodiazepínico en cuestión es el diazepam. (2)

A través de la experimentación animal la imidobenzodiazepina (flumazenil) ha demostrado antagonizar diversos efectos de los agonistas benzodiazepínicos: (9) (11). En la Tabla No.1 se encuentran resumidos algunos de estos datos experimentales:

TABLA No. 1

Efectos antagonizados por el flumazenil en diferentes especies

ESPECIE	ACCION ANTAGONIZADA
Ratón	Alteración del rendimiento por efecto del diazepam en el horizontal wire test. Efecto antipentetrazol inducido por el diazepam. Fijación in vitro e in vivo del flunitrazepam al 3H Amnesia inducida por el triazolam.
Conejo	Depresión respiratoria inducida por el diazepam y el flunitrazepam.
Gato	Efectos inducidos por el meclonazepam en la actividad de la médula espinal.
Perro	Ataxia por efecto del meclonazepam.
Barizo	Estado similar a la narcosis inducido por el flunitrazepam; sueño inducido por el midazolam.

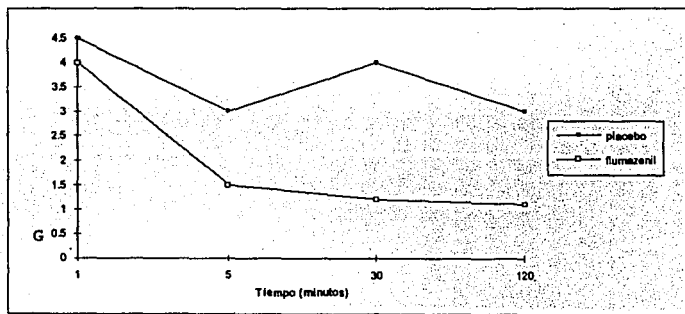
Kirkegaard y colaboradores estudiaron el efecto del flumazenil en un grupo de pacientes ambulatorios sometidos a gastroscopia, previa sedación con diazepam intravenoso. Tras el examen les fué administrado el flumazenil o el placebo registrándose los siguientes parámetros: presión arterial, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, grado de sedación y efectos secundarios en caso de haberlos.⁽²⁾

Durante la experimentación con el flumazenil se establecieron parámetros y criterios de eficacia aplicados a los diversos estudios, siendo el grado de sedación el parámetro principal considerado y el cual se cuantificó aplicando una escala de 5 puntos:

- 0= despierto y plenamente conciente.
- 1= despierto pero no plenamente conciente.
- 2= somnoliento.
- 3= dormido pero despertable.
- 4= dormido y no despertable.

En el grupo "flumazenil" la anulación de la sedación fué significativamente más rápida así como el grado de sedación fué significativamente menor que en el grupo tratado con placebo durante dos horas de observación. Estos resultados pueden apreciarse en la Figura No. 7.⁽²⁾

FIGURA No 7
Gráfica de grado de sedación - tiempo



- 1= paciente despierto y plenamente conciente.
- 2= paciente despierto y no plenamente conciente.
- 3= paciente somnoliento.
- 4= paciente dormido pero despertable.
- 5= paciente dormido pero no despertable.

En otros estudios realizados fué posible observar el efecto antagonista del flumazenil en el caso de que la sedación fué inducida por diazepam o midazolam, la Tabla No. 2 resume los resultados obtenidos en tales estudios. (47)

Scollo-Laviazzari estudiaron por primera vez la acción del flumazenil en un grupo de pacientes que se encontraban en coma profundo inducido por dosis muy elevadas de benzodicepinas tomadas con fines terapéuticos o suicidas, obteniendo en su evaluación de resultados una respuesta favorable con el uso del antagonista. (45)

Después de diversos estudios, algunos autores sostienen que el flumazenil resulta ser un fármaco eficaz para el tratamiento inmediato de los intentos de suicidio con sobredosis medicamentosas y de los estados neurológicos de origen incierto. (45) (28)

TABLA No 2

Resultados relativos de la eficacia en la sedación (47)

Dosis de BZD(mg)		Dosis de «Anest» (mg o mgEq)		Parámetros de eficacia	
Sed mi o Di	n	x ± DS	x ± DS	Despertar	
a)	Di	8	15.0 ± 4.1	0.16 ± 0.07	Nivel de conciencia más tarde 1-0.3mg de «Lanexat»
	Mi	2	10.5 ± 6.4	0.25 ± 0.07	Todos los pacientes despertaron ninguno recordaba la broncoscopia
b)	Mi	7	8.0 ± 3.3	0.24 ± 0.07	
c)	Mi	11	13.5 ± 7.2	0.41 ± 0.11	Todos los pacientes despertaron tranquilos, re-sedación 2-3 horas después
d)	Di	8	15.0 ± 12.3	0.23 ± 0.08	Todos los pacientes somnolientos tras la operación despertaron en el espacio de 5 min tras la administración del «Lanexat» No recordaban la gastroscopia 24 horas después Si recordaban dibujos mostrados 15,30 y 80 min. tras la administración del «Lanexat»
e)	Mi	6	10.5 ± 2.7	0.24 ± 0.12	Los pacientes despertaron en 1-4 min.
	Di	7	11.9 ± 4.2		
	Mi + Di	2	13.2 ± 20.0		
f)	Mi	10	17.3 ± 8.3	0.26 ± 0.18	Los pacientes estaban despiertos o somnolientos a los 0.5-4 min. de la administración del «Lanexat»
g)	Di	10	12.2 ± 5.1	0.22 ± 0.07	Todos los pacientes despertaron de 1-2 minutos
Sed Di					Sed.(despierto) Amnesia(ninguna)
	Mediana, mg/kg		x ± DS	Antes	
	BZD	Pls	Ro	Pls	5 min después
	0.40	0.41	Ro	Pls	120 min después
			0.9 ± 0.2	5%	10%
				80%	50%
				85%	35%
					p < 0.01

BZD: Benzodicepina Sed: sedación Mi: midazolam Di: diazepam Ro: flumazenil Pls: placebo

2.2 MECANISMO DE ACCION

Diversos estudios sugieren que tanto el flumazenil como el diazepam, al igual que el resto del grupo al que pertenece este último, actúan sobre el mismo sitio receptor de manera que el primero antagoniza los cambios bioquímicos inducidos en cerebro por el diazepam. (16) (26) El flumazenil por sí mismo no altera la reducción del mismo inducido por la benzodiazepina. (6) (15)

Se sabe que el flumazenil es un antagonista específico como resultado del bloqueo de los receptores benzodiazepínicos.(12) Cuando existen agonistas benzodiazepínicos ligados a receptores , el fármaco los desplaza competitivamente y en consecuencia los efectos farmacológicos de las benzodiazepinas son anulados. (47) (34,26)

El antagonismo competitivo establecido entre el flumazenil y el agonista benzodiazepínico puede representarse de manera gráfica. (Figura No. 8)

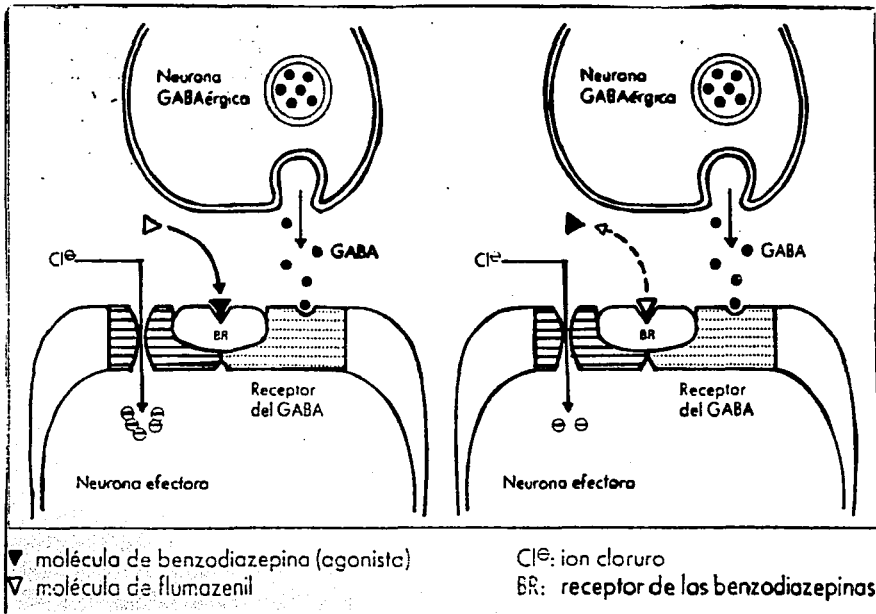
La ausencia de todo efecto del flumazenil contra la acción depresora de los baarbitúricos que a dosis bajas presentan propiedades farmacológicas similares a las de las benzodiazepinas resulta de particular interés, ya que en ciertos casos despliegan su actividad potenciadora del GABA dentro del mismo complejo supramolecular que las benzodiazepinas.(35)

El proceso esquematizado en la Figura No. 8 puede resumirse en los siguientes puntos:

- a) Activación del receptor del GABA que por unión del GABA abre el canal clórico.
- b) Ocupación del receptor benzodiazepínico por agonistas benzodiazepínicos, incrementándose la afinidad del receptor del GABA por el GABA.
- c) Ocupacion de receptores benzodiazepínicos por parte del antagonista (flumazenil) sin incrementar el efecto del receptor del GABA en el canal clórico.
- d) Finalmente, la unión del GABA a su receptor aumenta la afinidad del receptor de las benzodiazepinas por los agonistas y/o antagonistas benzodiazepínicos. (34)

Así, el flumazenil es un antagonista específico de las benzodiazepinaas por cuanto se une a los receptores específicos de éstas, pero sin generar ningún efecto farmacológico, el resultado es el bloqueo de dichos receptores. Cuando ya existen agonistas benzodiazepínicos ligados a los receptores, el flumazenil los desplaza de manera competitiva. (12) (16) (24) (47)

Desplazamiento competitivo de un agonista benzodiazepínico por el flumazenil en el receptor específico



2.3. IMPLICACIONES TERAPEUTICAS

El descubrimiento y por ende el uso del flumazenil trae consigo importantes implicaciones dentro del campo de la medicina, sobre todo en lo que a terapia intensiva y anestesiología se refiere.

El conocimiento del compuesto crea nuevas expectativas en el tratamiento de intoxicaciones causadas por sobredosis con benzodiazepinas, ya sean accidentales o por intento de suicidio, evitando con ello un gran número de muertes; de igual manera permite controlar los efectos de las mismas en intervenciones diagnósticas y quirúrgicas, lo que implica un menor riesgo para el paciente. Desde el punto de vista diagnóstico, este tipo de antagonista puede desenmascarar la presencia de benzodiazepinas en SNC, además de permitir la definición de las propiedades estructurales requeridas por las moléculas que serán reconocidas y unidas a receptores benzodiazepínicos para inducir o prevenir cambios conformacionales en el receptor protéico favoreciendo con ello o no la transmisión del GABA, de acuerdo a las necesidades.

El flumazenil resulta una herramienta poderosa en el estudio de la existencia de ligandos endógenos para receptores benzodiazepínicos. [24] [6]

En esta forma podemos detectar la trascendencia del empleo de este tipo de fármacos como alternativas de los regímenes terapéuticos.

El antagonismo establecido entre el diazepam y el flumazenil es un ejemplo claro de la importancia de las interacciones medicamentosas desde el punto de vista profiláctico y sobre todo terapéutico, ya que da lugar a nuevas alternativas con menores riesgos para el paciente y da la pauta a futuras investigaciones que permitan encontrar nuevos compuestos útiles dentro de la práctica clínica y que sin duda contribuirán al mejoramiento de los regímenes terapéuticos.

3. MATERIAL Y METODO

3.1 MATERIAL

3.1.1. MATERIAL BIOLÓGICO

Especie: Ratón

Raza: Albina

Edad: Adulta

Sexo: Machos

Peso: 30-45 gr.

3.1.2. MATERIAL DE LABORATORIO

Sondas para la administración oral.

Jeringas hipodérmicas de 1 ml.

Balanza para animales

Cajas para ratón.

Hisópos

Probeta de 10 ml.

Cronómetro.

Solución de ácido pírico.

3.1.3. FARMACOS

Diazepam (vallium). Tabletas de 2 mg. en frasco con 90 comprimidos (Roche)

Flumazenil (lanexat). Solución inyectable de 0.5 mg/5 ml. (Roche)

3.2. MODELO EXPERIMENTAL

3.2.1. Hipótesis

El flumazenil es una imidobenzodiazepina que al interactuar con receptores benzodiazepínicos bloquea la ocupación de los mismos por parte de benzodiazepinas de forma tal que bloquea y/o revierte los efectos de las benzodiazepinas, actuando entonces como un antagonista farmacológico de tipo competitivo. (24) (25) (26)

3.2.2. Desarrollo Experimental

Distribución: Se pesaron y marcaron los animales con el fin de distribuirlos en lotes homogéneos, utilizando para ello el método de la curva japonesa. Los lotes fueron tratados como sigue:

Lote I- Control.

Lote II- Sujetos tratados con diazepam.

Lote III- Sujetos tratados con flumazenil.

Lote IV- Sujetos en los que se propició la interacción farmacológica diazepam-flumazenil.

Dosis vías de administración: Las dosis y vías de administración de cada uno de los fármacos se resumen en la tabla No. 3

TABLA No. 3

FARMACO	VIA DE ADMINISTRACION	DOSIS
Diazepam	oral (empleando sondas)	2mg/kg
Flumazenil (dosis 1*)	intraperitoneal	0.3 mg/kg
Flumazenil (dosis 2**)	intraperitoneal	0.5 mg/kg

A través de diversas experiencias se obtuvo el número total de animales tratados de acuerdo a las especificaciones de cada lote; sin embargo para efectos prácticos de estadística se manejaron únicamente 50 datos de cada uno de los lotes.

Los parámetros evaluados a lo largo de la experimentación fueron de dos tipos: cualitativos y cuantitativos.

Los parámetros cualitativos se refieren a los efectos producidos por el diazepam y pueden observarse a través de la conducta del animal. Los parámetros considerados son:

*** Comportamiento general:**

Se observa si el animal está despierto o dormido, quieto o en movimiento, si se muestra agresivo o indiferente ante el experimentador, si emite gritos o permanece callado.^(p1)

*** Movilidad:**

Se observa si el animal la actividad motora espontánea del animal, la existencia de temblor, presencia de incoordinación de la marcha (denotada por el arrastre de las patas traseras del animal al andar). La actividad normal del animal se verá disminuida bajo los efectos del depresor.^(p1)

*** Tono muscular:**

La relajación muscular puede determinarse por simple palpación del animal, notándose una marcada diferencia entre un animal control y uno bajo la influencia depresora del fármaco depresor el cual produce una disminución del tono muscular, produciendo así mismo una relajación de esfínteres.^(p1)

*** Reflejo palpebral:**

Al acercar la punta de algún objeto al ojo del animal, éste debe parpadear de lo contrario se infiere que los globos oculares han perdido su movilidad voluntaria a causa de los efectos depresores del diazepam, es decir que la capacidad de movimientos oculares voluntaria se verá disminuida o anulada bajo los efectos del depresor.^(p1)

*** Respuesta de lucha o pasividad:**

En esta prueba se determina el comportamiento de lucha de un animal ante posiciones inusitadas como por ejemplo sujetarlos por la nuca o de alguna de las extremidades; un ratón control no permitirá que se le sujete, mientras que en los sujetos en que dicho comportamiento resulta anulado son fácilmente sujetados. Otro aspecto importante es la movilidad de la cola del animal al ser sujetado por la nuca, comportamiento normal en el sujeto control, que no se presenta en el sujeto experimental.^(p1)

*** Reflejo de enderezamiento:**

Se determina este aspecto arrojando al animal por la cola de tres a cinco ocasiones estableciendo el número de veces que cae en forma inapropiada. Se considera normal si cae sobre sus cuatro patas, pero si lo hace de lado es indicativo de que dicho reflejo ha sido disminuido; Asimismo el hecho de que se incorpore de manera lenta o le sea imposible hacerlo indica el grado en que se ha perdido dicho reflejo. (31)

El parámetro cuantitativo estudiado se refiere al *tiempo* de duración de los efectos mencionados anteriormente una vez administrado el diazepam en presencia y en ausencia del antagonista.

CAPITULO 4

RESULTADOS

4.1.TABLAS DE RESULTADOS

TABLA No. 4

Duración del efecto depresor del Diazepam

EXPERIENCIA	No. DE SUJETOS	TIEMPO PROMEDIO DE DURACION (HORAS)
1	3	2.1722
2	3	2.5944
3	3	2.5722
4	3	2.4333
5	3	2.6944
6	3	2.5277
7	3	2.4166
8	3	2.6388
9	3	2.5833
10	3	2.2944
11	3	2.2833
12	3	2.7111
13	3	2.4222
14	3	2.0888
15	3	2.6555
16	3	2.5000
17	2	2.2122

La tabla muestra los tiempos promedio de duración del efecto depresor del diazepam en ausencia de antagonista.

TABLA No. 5

**Duración del efecto depresor del diazepam en presencia del flumazenil
(dosis uno)**

EXPERIENCIA	No. DE SUJETOS	TIEMPO PROMEDIO DE DURACION (HORAS)
1	5	1.4733
2	5	1.6966
3	5	1.9768
4	5	1.9366
5	5	2.0400
6	5	1.7868
7	5	2.0500
8	5	2.0111
9	5	1.8728
10	5	2.5000

La Tabla muestra los tiempos promedio de los efectos producidos por el diazepam en presencia de flumazenil (dosis uno)

TABLA No. 6

Duración del efecto depresor del diazepam en presencia del flumazenil
(dosis dos)

EXPERIENCIA	No.DE SUJETOS	TIEMPO PROMEDIO DE DURACION (HORAS)
1	5	1.4055
2	5	1.7133
3	5	1.8966
4	5	1.4972
5	5	1.5750
6	5	1.4733
7	5	1.4066
8	5	1.5533
9	5	1.9733
10	5	1.5933

La tabla muestra los tiempos promedio del efecto depresor del diazepam en presencia de flumazenil (dosis dos).

En general los sujetos tratados con flumazenil no observaron ningún cambio de conducta es decir que el fármaco no ejerció efecto farmacológico alguno sobre los animales durante la experimentación.

4.2. OBSERVACIONES

Durante la experimentación cada sujeto fué sometido a mas de una experiencia conservándose siempre dentro de su lote respectivo; esto significa que cada uno de los animales fué administrado más de una vez con el fármaco o fármacos en estudio, lo que puede dar lugar a cambios en la respuesta del animal con respecto a la primera vez que éste fué enfrentado a la sustancia en cuestión.

El flumazenil fué administrado a los animales aproximadamente después de 15 minutos de ser administrado el diazepam, tiempo al cual ya era posible observar algunos de los efectos del fármaco; el flumazenil se administró siempre después de observar efecto por parte del diazepam, nunca antes de esto ni al mismo tiempo que se administró el diazepam.

4.3. ANALISIS DE RESULTADOS

4.3.1. ANALISIS ESTADISTICO

En la siguiente tabla se presentan los parámetros estadísticos obtenidos a partir de los tiempos de duración del efecto depresor del diazepam para cada uno de los lotes trabajado.

TABLA No. 7

Parámetros Estadísticos

PARAMETRO	LOTE I	LOTE II	LOTE III
x	2.4841	1.8850	1.6318
s	0.4282	0.4228	0.4487
s ²	0.1834	0.1788	0.2014
c.v	7.44%	9.48%	12.34%
n	50	50	50

I = lote tratado con diazepam
II = lote tratado con diazepam y flumazenil (dosis uno)
III = lote tratado con diazepam y flumazenil (dosis dos)
x = media poblacional
s = desviación estándar
s² = varianza
c.v = coeficiente de variación
n = tamaño de muestra
(14)

Las pruebas estadísticas realizadas fueron de dos tipos: pruebas de hipótesis y pruebas de comparación de medias.

• Pruebas de Hipótesis

$$H_0: \mu = c$$

$$H_0: \mu \neq c$$

$\alpha = 0.05\%$ de significancia.

$$z^{\alpha/2} = +/- 1.96$$

$\alpha = 0.01\%$ de significancia.

$$z^{\alpha/2} = +/- 2.58$$

Ho se rechaza si $z \notin (-z^{\alpha/2}, z^{\alpha/2})$

$$z = \frac{\bar{x} - \mu}{\sigma} = \frac{\bar{x} - \mu}{\sigma / \sqrt{n}}$$

Calculando la z experimental para cada lote tenemos que:

ze (diazepam-flumazenil dosis uno) = -9.56 e si uno) = -9.56

ze (diazepam-flumazenil dosis dos) = -13.74

En ambos casos Ho debe ser rechazada. *

• Pruebas de comparación de medias

Los valores experimentales de z calculados son:

ze (diazepam-flumazenil dosis uno) = -159

ze (diazepam-flumazenil dosis dos) = -217.8

ze (comparación entre las dosis de flumazenil empleadas) = 66.69

En todos los casos Ho es rechazada.

• Interpretación de la prueba de hipótesis:

Dado que Ho se rechaza en ambos casos, se infiere que existe un efecto antagónico entre el diazepam y el flumazenil, lo cual puede decirse con un 95 y un 99% de confianza.

*** Interpretación de la comparación de medias:**

Ho fue rechazada en todos los casos lo cual implica que la diferencia de medias es muy grande para ser atribuida al azar, esto es que el flumazenil produce un efecto antagonista significativo con respecto al diazepam, tanto al 95 como al 99% de confianza a las dosis de antagonista empleadas.

Así mismo la comparación de medias permitió establecer la diferencia en el efecto antagónico producido con cada una de las dosis empleadas de flumazenil; tal diferencia no puede ser atribuida al azar, por lo tanto es lógico suponer que la dosis empleada es la causa de la diferencia encontrada.⁽¹⁴⁾

Los coeficientes de variación calculados se encuentran en un rango aceptable considerando el hecho de que se trabajó con material biológico, por lo tanto existen un gran número de factores de variación que no pueden ser controlados por el investigador. La variabilidad encontrada experimentalmente se encuentra dentro de los límites aceptables reportados en la literatura.⁽¹⁵⁾

4.4. INTERPRETACION DE RESULTADOS

Los resultados expuestos en las tablas permiten establecer el efecto antagónico del flumazenil ante el diazepam con base en la comparación de los tiempos de duración del efecto depresor producido por este último, siendo tales tiempos mas cortos para los grupos en los que fué inducida la interacción de interés.

Las diferencias pudieron establecerse de manera estadística demostrando con ello que el efecto antagónico entre el flumazenil y el diazepam se presenta.

En otro aspecto, la dosis de flumazenil empleada para revertir los efectos del diazepam es una variable importante ya que influye de manera considerable en el efecto antagónico; al emplear una dosis mayor de flumazenil disminuye de manera notable el tiempo de duración del efecto depresor del diazepam, este hecho permite suponer que el antagonismo establecido entre ambos fármacos es de tipo competitivo, de manera que al incrementar la dosis de antagonista mayor resulta el bloqueo de los receptores benzodiazepínicos.

Los casos en que el tiempo de duración del efecto del diazepam en los animales tratados con ambos fármacos es similar e incluso mayor que para los tratados exclusivamente con la benzodiazepina pueden ser explicados por tres puntos:

- Las características particulares de cada sujeto en estudio.
- La eliminación rápida del flumazenil de los sitios de acción dada su corta vida de acción.
- La tolerancia que puede crear un individuo ante cierto fármaco de manera que la dosis empleada ya no tiene los mismos efectos que cuando es administrada por primera vez al individuo.⁽⁴⁷⁾

Los resultados obtenidos son coherentes con el comportamiento esperado de acuerdo a lo reportado en la literatura.

CONCLUSIONES

- La administración del diazepam seguida de la administración del flumazenil dió lugar a una interacción farmacológica de tipo antagónico, lo cual se comprobó con un 99% de confianza.
- El flumazenil actúa como un agente bloqueador de los efectos depresores del diazepam sin producir por sí mismo efecto farmacológico a las dosis estudiadas.
- El efecto bloqueador del flumazenil depende de la dosis empleada, a mayor concentración de antagonista mayor acción bloqueadora.

COMENTARIOS

La trascendencia del flumazenil se traduce en las aplicaciones terapéuticas que puede tener, mismas que pueden predecirse en función de su capacidad de revertir de manera rápida los efectos no deseados del diazepam y de las benzodiazepinas en general.

En la práctica clínica existen áreas diversas donde el uso de flumazenil resulta fundamental reduciendo los riesgos que implica para el paciente un estado prolongado de anestesia cuando éste no se requiere. De igual forma permitirá salvar un importante número de pacientes que sufren intoxicaciones causadas por agentes benzodiazepínicos dada su popularidad y en consecuencia el uso y aún el abuso de los mismos.

Lo anterior tiene repercusiones no sólo desde el punto de vista terapéutico sino también de carácter económico, dado que la recuperación pronta de un estado de anestesia reduce el tiempo de observación y permanencia en la sala de recuperación, lo cual se traduce en un importante ahorro de muchas horas y personal que puede dedicarse a otras actividades.

Este ahorro a su vez puede incidir en otras áreas del hospital para brindar un mejor servicio a la comunidad.

En función de lo mencionado anteriormente puede fundamentarse la gran importancia y repercusiones que pueden traer consigo las interacciones farmacológicas.

BIBLIOGRAFIA

1. Atkinson, R.S., Rushman, G.B. y Alfred, L.J. Anestesia. Ed. Médica Panamericana, 8ava. edición, España, 189-190 (1981)
2. Barret, J.E., Brady, L.S. et. al. Interactions between the Benzodiazepine receptor antagonist Ro 15-1788 (flumazenil) and the inverse agonist -CCE: Behavioral studies with squirrel monkeys. *Life Sci.* 36: 1407-1414(1985).
3. Bevan, J.A. Fundamentos de Farmacología. Ed. Harfa, 2a. edición, México, 3-9, 272-275.(1976)
4. Boireau, A., Dubedat, P., et. al. Preferential Decrease in Dopamine utilization in Prefrontal cortex by Zopiclone, Diazepam and Zolpidem in unstressed Rats. *J.Pharm. Pharmacol.* 42:562-565(1990)
5. Bolton, S. Pharmaceutical Statics, Practical and Clinical Application Ed. Marcel-Dekker, USA, 19-20(1984)
6. Bonetti, E.P., Pieri, L. et. al. Benzodiazepine Antagonist Ro-15-1788 Neurological and Behavioral Effects. *Psychopharmacology*, 78: 8-18 (1982)
7. Bowman, W.C., Rand, M.J. y West, G.B. Farmacología. Ed. JIMS, España, 432-434, 462-465 (1970)
8. Clark, Brater y Johnson, Goth. Farmacología Clínica. Ed. Médica Panamericana, 12ava. edición, México, 593-597(1990)
9. Coates, W., Evans, T.C., et. al. Flumazenil for the Reversal of Refractory Benzodiazepine-Induced Shock. *Clinical Toxicology*, 24(4): 537-542(1991)
10. Cole, So., Reversal of Chlordiazepoxide-induced Impairment in Successive Discrimination Performance by Ro 15-1788. *Drug Dev. Res.* 18: 229-236(1989)
11. Craig, R.Ch., Stitzel, R.E. Farmacología Médica. Ed. Interamericana México, 17--19(1985)

12. Cumin,R.,Bonetti,E.P.,et. al. Use of the Specific BZD Antagonist, Ro 15-1788, in Studies of Physiological Dependence of BZD. *Experientia*, 38: 833-834 (1982)
13. Chweh,A.,Lin, Y. y Swinyard, E.A. Hypnotic Action of Benzodiazepines, A Possible Mechanism *Life Sci.* 34: 1763-1768 (1984)
14. Daniel,W:W., Bioestadística. Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud. Ed. Limusa, 13-14, 155-174, 450. (1985)
15. Darragh,A.,Lambe,R.,et. al. Absence of Central Effects in Man of the BZD Antagonist Ro 15-1788. *Psychopharmacology*, 80:192-195 (1983)
16. Darragh,A.;Scully,M., et. al. Investigation in Man of the Efficacy of the Benzodiazepine Antagonist, Ro 15-1788, *Lancet*.II: 8 - 10 (1981)
17. Drill, V.A., Farmacología Médica. Ed. La Prensa Médica <mexicana, México, 59-60, 84, 395-399 (1973)
18. Gilli, G., Chiara,P., et. al. Normal Phase HPLC as a Model System of Specific Benzodiazepine Receptor Binding. *J. Pharm. Pharmacol.* 42: 401-404 (1990=)
19. Gonsalves,S.:F. y Gailager,D.W. Spontaneous and Ro 15-1788 Induced Reversal of Subsensitization to GABA Following Chronic Benzodiazepines. *Eur. J. of Pharm.* 110: 163-170 (1985)
20. Goodman,L., Gilman. Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Ed. Interamericana, 7a. ed. México (1987)
21. Guía Profesional de Medicamentos. Ed. El Manual Moderno, México, 259, 266, (1984)
22. Harris,C.M. y Lal, H. Central Nervous System Effects of the Imidazodiazepine Ro 15-4513. *Drug Dev. Res.* 13: 187-203 (1988)
23. Hartmann,D., Fluckiger,A., et. al. Experimental Model for the Investigation of Kinetic and/or Dynamic Interactions between Drugs and Ethanol in Humans. *J. of Pharm. Sci.* 77(4): 299 - 303 (1988)

24. Hunkeler,W., Möhler,H. et. al. Selective Antagonist of Benzodiazepines. *Nature*, 290: 514-516(1981)
25. Idemudia,O.S. y Lal,H. Pentylentetrazoles Like Stimulus is Produced in Rats During Withdrawal from Ingested Chlodiazepoxide. *Drug Dev. Res.* 16: 23-29 (1989)
26. Jensen,L.H.,Peterson,E.N. et. al. Audiogenic Seizures in DBA/2 Mice Discriminate Sensitively Between Low Efficacy Benzodiazepine Receptor Agonist and Inverse Agonist. *Life Sci.* 33(4): 393-399 (1983)
27. Katzung,B.G. Farmacología Básica y Clínica. Ed. El Manual Moderno, México, 9-15, 230-240 (1984)
28. Kenneth,G. et. al. Reversal of the Antiaversive and Anticonvulsant Actions of Diazepam, but not of Progabide, by a Selective Antagonist of Benzodiazepine Receptors. *Eur. J. of Pharm.* 75: 77-78 (1981)
29. Kirkegard,L., Kaudsen,L. et. al. Benzodiazepine Antagonist Ro-15-1788. *Anaesthesia*, 41: 1184-1188 (1986)
30. Klotz,J. Ziegler,G. et. al. Pharmacokinetics of the Selective Benzodiazepine Antagonist Ro 15-1788 in man. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 27: 115-117 (1984)
31. Litter,M. Farmacología Experimental y Clínica. Ed. El Ateneo, 7a. edición , Argentina, 83-91, 94,95,106-108,252-257,293-304 (1988)
32. Loebel,S. et. al. Manual de Farmacología. Ed. Limusa, México, 347-349 (1986)
33. Martin,M. Hazards of Medication. Ed. J.B. Lippincott Co., E.W. Philadelphia I. Toronto, (1979)
34. McNicholas,L.F.,Martin,W.R. The Effect of a Benzodiazepine Antagonist, Ro 15-1788 in Diazepam Dependent Rats. *Life Sci.* 31: 731-737 (1982)
35. Möhler,H., Richards,J.G. Benzodiazepine Receptors in the Central Nervous System; in *The Benzodiazepines: from Molecular Biology to Clinical Practice*. Ed. E. Costa. N.Y. Raven Press, 93-116 (1983)

36. Morselli, Cohen y Garattini, Drug Interactions. Ed. Raven Press, USA, 7-8 (1974)
37. Nutt, D.J., Cowen, Ph. Unusual Interactions of Benzodiazepine Receptor Antagonist. *Nature*, 295: 436-438 (1982)
38. Polc, P., Bonetti, E.P. et. al. A three-state Model of the Benzodiazepine Receptor Explains the Interactions Between the Benzodiazepine Antagonist Ro 15-1788, Benzodiazepine Tranquillizers, β carbolines, and Phenobarbitone. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 321: 260-264 (1982)
39. Pyrs, R.C., Hug, C.C. Farmacocinética de los Anestésicos. Ed. El Manual Moderno, México, 139-162 (1986)
40. Richard, P. et. al. The Use of Flumazenil in a Neonate. *Clin. Toxicol.* 29(1) : 137-140 (1991)
41. Roncarì, G. et. al. Pharmacokinetics of the new Benzodiazepine Antagonist Ro 15-1788 in Man Following Intravenous and Oral Administration. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 22: 421-428 (1986)
42. Savic, I. et. al. Feasibility of Reversing Benzodiazepines Tolerance with Flumazenil. *The Lancet*, Jan 19, 337: 133-137 (1991)
43. Schoch, P. et. al. Co-localitation of GABA Receptors and Benzodiazepine Receptors in the Brain Show by Monoclonal Antibodies. *Nature*, 314: 168-171 (1985)
44. Scollo-Lavizzan, G. First Clinical Investigation of the Benzodiazepine Antagonist Ro 15-1788 in Comatose Patients. *Eur. Neurol* 22: 7-11 (1983)
45. Snyder, S.H. Drug and Neurotransmitter Receptors. *JAMA*, 26(21) 3126-3129 (1989)
46. Valdecasas, G.F. et. al. Bases Farmacológicas de la Terapéutica Medicamentosa. Ed. Salvat Editores, S.A. España, 130-132 (1978)
47. Monografía del Lanexat .