



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Evaluación de la inducción de la xilazina en el efecto anestésico de la ketamina
en rata de laboratorio cepa Wistar vía intraperitoneal.

Tesis:

Que para obtener el título de:

Químico Farmacéutico Biólogo

Presenta:

Estela Aparicio Lozano

México, D.F., 2013

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	3
INTRODUCCIÓN.....	4
1. MARCO TEÓRICO	5
1.1 Anestesia	5
1.1.1 Definición.....	5
1.1.2 Historia.....	5
1.1.3 Anestesia en animales de laboratorio.....	7
1.1.4 Clasificación de la anestesia	8
1.1.5 Etapas de la anestesia.....	8
1.1.6 Características de los anestésicos.....	9
1.2 Ketamina	10
1.2.1 Propiedades fisicoquímicas	10
1.2.2 Propiedades farmacológicas	11
1.3 Xilazina	13
1.3.1 Propiedades fisicoquímicas	13
1.3.2 Propiedades farmacológicas	14
1.4 Factores que modifican la respuesta de un fármaco	15
1.4.1 Peso corporal	15
1.4.2 Sexo	15
1.4.3 Metabolismo de fármacos.....	15
1.4.4 Ritmos biológicos	16
1.4.5 Genéticos.....	17
1.4.6 Presencia de otros fármacos	17
1.5 Rata Wistar	18
1.5.1 Características generales	18
1.5.2 Aspectos reproductivos.....	19
1.5.3 Método de sujeción.....	19
1.5.4 Vías de administración	20
1.5.5 Métodos de identificación y registro.....	22
1.5.6 Eutanasia	24

1.6 Curva dosis respuesta – cuantal	25
1.6.1 Análisis de Probits.....	26
1.6.2 Dosis efectiva media (DE ₅₀)	27
1.6.3 Dosis letal media (DL ₅₀).....	27
1.6.4 Dosis tóxica media (DT ₅₀)	27
1.6.5 Índice terapéutico (IT).....	27
1.6.6 Margen de Seguridad (MS)	28
1.7 Análisis de varianza (ANOVA)	29
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	31
3. OBJETIVOS.....	32
4. HIPÓTESIS DEL TRABAJO:.....	33
5. METODOLOGÍA	34
6. DIAGRAMA DE FLUJO	38
7. RESULTADOS	41
8. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	61
9. CONCLUSIONES.....	64
ANEXOS	65
REFERENCIAS.....	68

RESUMEN

La aplicación de una anestesia segura y efectiva en animales de laboratorio, permiten realizar una investigación ética, responsable y obtener resultados de calidad, desempeñando la anestesia un rol importante en la investigación científica y formación académica. Se evaluó la combinación de ketamina + xilazina. La ketamina se caracteriza por ser un anestésico, mientras que la xilazina es un sedante y analgésico. El objetivo fue evaluar el efecto anestésico de la combinación ketamina + xilazina en ratas de laboratorio cepa Wistar (hembras y macho) via intraperitoneal (i.p), se utilizaron grupos con una N=6, determinándose los parámetros farmacológicos DE_{50} , DE_{99} , DL_1 , DL_{50} , IT y MS mediante una Curva dosis-respuesta cuantil (CDR-C), en el caso de ketamina se propusieron 9 grupos donde se administraron las dosis de 15, 30, 50, 90, 100, 130, 200, 230 y 260mg/Kg. Por otra parte, en grupos independientes se evaluó el efecto de la xilazina a las dosis 1, 3, 5 y 7mg/kg. La DE_{50} obtenida para ketamina fue de 85.38 mg/kg para hembras y 152.70 mg/kg para machos; con respecto a la xilazina no se observó diferencias significativas en la evaluación de las latencias de sedación al incrementar la dosis, por lo que se utilizó la dosis más baja (1mg/kg) para la combinación de ketamina + xilazina. En el caso de machos se tuvo que realizar nuevamente una CDR-C, ya que al realizar la combinación con sus respectivas dosis efectivas se presentó una potencialización del efecto, ocasionando la muerte, las dosis evaluadas fueron: 15, 30, 50, 60, 75, 90, 152mg/kg de ketamina y se mantuvo la misma dosis de xilazina (1mg/kg). Los resultados obtenidos mostraron una disminución del triple de la DE_{50} de ketamina + xilazina con respecto a la administración aislada de ketamina, originando un pequeño incremento con respecto al margen de seguridad ($MS=0.68$) e índice terapéutico ($IT=2.06$). Por otra parte, la administración de la combinación de DE_{50} de ketamina + xilazina en ratas hembra nos proporcionó un mayor tiempo de duración en la fase de hipnosis. Por lo anterior concluimos que la combinación de ketamina + xilazina, aumentan el tiempo de duración de la anestesia, y que las dosis utilizadas al combinarlas es mucho menor que si se utilizaran de forma independiente, sin embargo, se sugiere que cada bioterio obtenga sus MS, IT y DE_{50} , para obtener el máximo beneficio cuando se requiera inducir la anestesia en animales de laboratorio.

INTRODUCCIÓN

Para la investigación científica en el área de las ciencias de la salud como en el desarrollo académico en la licenciatura de química farmacéutico biológica es de vital importancia el empleo de animales de laboratorio. Siendo fundamental para el investigador y el alumno recordar la responsabilidad que implica utilizar seres capaces de sentir dolor, por lo cual el uso de una anestesia segura y efectiva ha tomado un papel invaluable en la experimentación.

Actualmente se emplean avanzados equipos de dosificación, incrementándose la seguridad en el uso de anestésicos. Sin embargo, en México en el ámbito académico se continúan utilizando barbitúricos como el pentobarbital, el cual presenta como desventaja la disminución de frecuencia cardíaca y presión arterial. En el presente trabajo se pretende evaluar como alternativa de anestésico en ratas de laboratorio cepa Wistar la combinación de ketamina + xilazina; ya que la ketamina se caracteriza por ser un anestésico disociativo que produce un aumento del tono del músculo esquelético, estimulación cardiovascular, broncodilatación y grado de analgesia variable, mientras que la xilazina, es un sedante y analgésico que induce la relajación muscular. Evaluándose si esta combinación permite disminuir las dosis de ketamina, reduciendo el riesgo de una depresión respiratoria tras la administración de altas dosis necesarias para alcanzar estados de hipnosis para el plano quirúrgico, incrementándose sus índices de seguridad, esto permite conocer si la combinación es una opción segura y efectiva para producir anestesia en ratas de laboratorio.

El modelo experimental que se utilizará será la rata de laboratorio cepa Wistar, debido a que es uno de los animales más empleados en la formación académica e investigación del área química, ya que presenta un tamaño pequeño, ciclo de vida y períodos de gestación cortos.

En este proyecto de investigación se realizará la administración mediante la vía intraperitoneal (i/p), el peritoneo es una zona muy irrigada, que facilita el paso de fármacos a la circulación sanguínea, y muestra menores dificultades que las que se presentan en la administración intravenoso en roedores.

Es importante resaltar el uso correcto de los anestésicos, debido a que éste incrementa la calidad de los resultados que se obtienen durante los proyectos tanto en el ámbito de investigación como en el académico.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Anestesia

1.1.1 Definición

El nombre de anestesia deriva del vocablo griego “*a aisthesis*”, definiéndose como la privación total o parcial de la sensibilidad producida por causas patológicas o provocadas con una finalidad médica.¹

1.1.2 Historia

El alivio del dolor ha estado presente, desde la prehistoria, con remedios aplicados por brujos, limitándose al empleo de terapias físicas como masajes, compresiones y al uso del calor y el frío.²

En el siglo I d.C., el filósofo griego Dioscórides, usó por primera vez el término anestesia para describir los efectos similares a los narcóticos de la planta mandrágora. Este término apareció subsecuentemente en “*An Universal Etymological English Dictionary de Bailey*” (1721), como un defecto de sensación y nuevamente en la Enciclopedia Británica (1771) como “privación de los sentidos”.¹

Antes de 1846 los procedimientos quirúrgicos no eran muy frecuentes. Se tenían conocimientos rudimentarios sobre la fisiopatología de las enfermedades, y sobre los fundamentos para tratarlas mediante procedimientos quirúrgicos. Se sabía muy poco de la técnica séptica y de la prevención de las infecciones de heridas en general. Además, la falta de anestesia satisfactoria era un obstáculo de importancia.³

Aunque durante años habían sido conocidas por algunos las propiedades analgésicas tanto del óxido nitroso como del éter dietílico, a estos agentes no se les empleaban con fines médicos. Priestley sintetizó el óxido nitroso en 1776, y tanto este investigador como Humphry Davy comentaron, cerca de 20 años después, sus propiedades anestésicas.³

Los dentistas fueron los profesionales clave en la iniciación del uso tanto del éter dietílico como del óxido nitroso para la anestesia. Horace Wells, odontólogo, observó que bajo el influjo del óxido nitroso, se autoinfligía una lesión sin sentir dolor. Al día siguiente, Wells, mientras respiraba ácido nitroso, hizo que un colega le extrajera uno de sus propios dientes, sin dolor. Poco después, intentó demostrar su descubrimiento en el Massachusetts General Hospital de Boston. Desafortunadamente, el paciente gritó durante la operación, por lo que se consideró que esta demostración había sido un fracaso.³

William T. G. Morton, odontólogo de Boston, se percató de los efectos anestésico del éter, realizando su demostración en octubre de 1846 con un paciente que debía ser intervenido de un tumor vascular en el cuello, empleó un inhalador diseñado por él con válvula inspiratoria y expiratoria para administrar el éter, la operación fue un éxito, reconociéndose a Morton como el pionero en el uso de éter como agente anestésico y como el primer anestésista clínico.²

Posteriormente se utilizó como anestésico el cloroformo. Introducido en el campo de la anestesia por el obstetra escocés James Simpson, en 1847, se puso muy en boga quizá por su olor más agradable. Sin embargo, esta sustancia es una hepatotoxina y un depresor cardiovascular importante. A pesar de la incidencia relativamente alta de defunciones transoperatorias y posoperatorias que acompañó al empleo de este agente, fue el anestésico más utilizado, sobre todo en Inglaterra, durante casi 100 años.³

En 1929, se descubrieron, de manera accidental, las propiedades anestésicas del ciclopropano, cuando un grupo de químicos estaba analizando impurezas en un isómero, el propileno. Sin embargo, dado el riesgo creciente de explosión en la sala de operaciones planteado por el empleo de equipo electrónico, se incrementó la necesidad de contar con un agente anestésico seguro y no inflamable, desarrollándose el halotano por British Research Council en 1956, este fármaco revolucionó la anestesia por inhalación. Se descubrieron también los relajantes del músculo estriado, como el curare. La primera aplicación clínica de éste fue para tratar los trastornos espásticos, pues podía disminuir el tono muscular sin poner en peligro en grado importante la respiración. El empleo de los relajantes musculares permiten condiciones adecuadas para las operaciones quirúrgicas, con niveles leves de anestesia general: de esta manera se vuelve mínima la depresión cardiovascular, y el paciente despierta pronto cuando se interrumpe la administración del agente.³

Posteriormente, aumento el uso de la anestesia intravenosa, desarrollándose agentes anestésicos de acción más breve con menos efectos secundarios. En 1984 se incorporó el propofol, un hipnótico, derivado alquilofenólico. Con lo cual llegó el concepto de *TTVA* o anestesia total intravenosa, basado en la falta de acumulabilidad de este compuesto que permite la recuperación más rápida.²

Recientemente se han utilizado distintas combinaciones de fármacos intravenosas de varias clases como agentes anestésicos, casi siempre con óxido nitroso. La administración de opiáceos de acción breve por infusión intravenosa constante (con poco agente inhalatorio o ninguno) es un desarrollo actual en la práctica de la anestesia.³

El estudio y evaluación de fármacos con efectos anestésicos se ha encaminado principalmente para el uso humano, sin embargo, su evaluación inicial es en animales de laboratorio, por lo cual se menciona a continuación la anestesia en animales de laboratorio.⁴

1.1.3 Anestesia en animales de laboratorio

El objetivo de la anestesia en animales de laboratorio es evitar que los procedimientos quirúrgicos en los modelos experimentales sean dolorosos o incómodos para el animal, proporcionando un medio éticamente humanitario que reduzca al mínimo el sufrimiento físico y psíquico del mismo.¹

Los orígenes de la anestesia en animales se remonta a épocas antiguas siendo Paracelso uno de los pioneros en este rubro, en 1540 se utilizó éter en pollos para producir analgesia en. Posteriormente en 1665 Sir Christopher Wren realizó por primera vez una inyección intravenosa de tintura de opio en un perro, utilizando una vejiga unida a un cañón de pluma muy afilado. En 1667 Robert Hook practicó una intubación endotraqueal manteniéndolo vivo con el tórax abierto por medio de una maniobra de respiración artificial.²

En 1806 se experimento con ratones y perros el alcaloide del opio denominado morphium, en honor a Morfeo el dios de los sueños, aislado por el alemán Friedrich Sertürner.²

Siendo en 1823 cuando se realizó la primera anestesia inhalatoria practicada en animales por el cirujano Henry Hill Hickman administrando CO₂ a diferentes perros. Empleaba una campana de vidrio en la que introducía los animales y posteriormente gas lentamente. Es el 11 de marzo de 1848 cuando se registra la primera anestesia veterinaria practicada con cloroformo en España, la operación se llevó en la Escuela Superior de Veterinaria de Madrid por Ramón Llorente Lázaro, siendo el paciente una burra que se recuperó posteriormente. En julio de este mismo año se publica la obra Farmacopea Veterinaria y Formularios Magistral con un capítulo dedicado a los anestésicos donde se indica la dosificación del éter sulfúrico y del cloroformo para los herbívoros.²

Es en 1872 cuando se utiliza por primera vez el hidrato de cloral por vía intravenosa para anestesiar perros, en 1875 Humber describe su uso en el caballo. Posteriormente en 1896 se propone la combinación de éter sulfúrico para crear una atmósfera etérea, hidrato de cloral por vía oral y aceite opiado y alcanforado en la columna vertebral para tratar tétanos en un perro, publicado en un artículo de La Veterinaria Española.²

Siendo hasta comienzos de los años de 1950 cuando la Dra. Bárbara Weaver y el Dr. Leslie Hall profesores del Royal Veterinary College, considerados como los padres de la anestesia veterinaria moderna, iniciaron una etapa de aproximación hacia la anestesia practicada en el paciente humano, estableciendo Weaver y Hall la preanestesia, inducción y mantenimiento como los tres pasos del manejo anestésico en animales. Posteriormente en 1958 se publicó el uso de halotano en caballos y ganado vacuno por E.W. Fisher y S. Jennings.²

Durante los años 60 se produce la aparición y uso del fentanilo y la ketamina. En 1969 Katherine Clarke describe el uso clínico de la xilazina en los équinos y en el vacuno. Se llevó a cabo la identificación del receptor alfa por W.D. Paton y E.S. Vizi lo cual abrió nuevas vías de investigación de otros derivados imidazólicos como la detomidina, medetomina y romifidina, cuyo desarrollo ha significado una revolución en el manejo anestésico de los animales, pues no solamente proporcionan analgesia sino también sedación y relajación muscular.²

La búsqueda del anestésico ideal continúa, mezclándose los intereses económicos y clínicos para proporcionar una anestesia de calidad, tan exenta de riesgos como sea posible. Actualmente la moderna tecnología digital aplicada a los equipos monitorizados, la valoración preanestésica

ca, el consentimiento informado, los cuidados intensivos y el desarrollo de otras especialidades como la cardiología, medicina interna y radiología, han marcado el trabajo clínico del médico y el veterinario anestesiólogo moderno.²

Los fármacos anestésicos se clasifican de acuerdo a la región del cuerpo influenciada, esta clasificación se describe en el siguiente apartado.⁴

1.1.4 Clasificación de la anestesia

Anestesia general: Es la depresión global pero reversible de las funciones del sistema nervioso central (SNC), lo cual resulta en la pérdida de reacción y percepción de todo estímulo externo.³

Anestesia local - regional: Son fármacos que bloquean en forma reversible la conducción de los impulsos en cualquier parte del sistema nervioso y en la totalidad de los nervios. Estos compuestos a menudo se utilizan para inducir una pérdida transitoria de la sensibilidad en un área circunscripta del cuerpo sin provocar una pérdida general de la conciencia.⁵

Anestesia mixta: Es producida por el empleo de más de un anestésico, provocando la pérdida de la conciencia del paciente.⁶

1.1.5 Etapas de la anestesia

El progreso de la anestesia se divide en cuatro períodos o etapas, cuya amplitud depende del anestésico utilizado y del aumento de concentración del mismo en el sistema nervioso central.⁷

Etapa I (Analgesia). Existe depresión de las funciones corticales altas, no hay pérdida de la conciencia pero hay trastornos de la percepción, persisten todos los reflejos. El olfato y las sensaciones dolorosas se pierden al final de esta etapa.⁷

Etapa II (Excitación o delirio). El paciente puede reír, cantar y hacer movimientos sin control, se origina aumento del tono muscular y reflejos. Se presenta midriasis, es decir, dilatación de la pupila, los movimientos respiratorios son intensos e irregulares, pueden presentarse arritmias cardíacas a consecuencia de la inhibición vagal del corazón.⁷ Esta etapa y la anterior constituyen la inducción, que se caracteriza por la pérdida rápida de la conciencia y el paso al plano superficial de la anestesia quirúrgica.⁸

Etapa III (Anestesia quirúrgica). Esta etapa se divide en cuatro planos, el primero se manifiesta por recuperación de la respiración regular, pero lenta, miosis, es decir, contracción de la pupila, los centros de la tos y vómito se encuentran deprimidos. En el segundo plano, se presenta midriasis, es decir, dilatación de la pupila, la respiración se vuelve superficial, desapareciendo completamente los reflejos faríngeo y laríngeo, existe relajación completa del músculo esquelético, conservándose el reflejo peritoneal, el cual desaparece en el tercer plano, permitiendo, la cirugía abdominal, además se presenta una disminución de la tensión arterial. En el cuarto plano, se presenta una depresión intensa de los centros bulbares, la tensión superficial cae, el pulso es rápido y débil, la respiración es débil e irregular, no hay reflejos y se presenta midriasis.⁷

Etapa IV (Parálisis bulbar). Se produce por depresión de los centros bulbares hasta el paro respiratorio, coma y muerte.⁸

1.1.6 Características de los anestésicos

Los agentes anestésicos deprimen a todos los tejidos excitables, entre ellos a las neuronas del sistema nervioso central, al músculo cardíaco y a la musculatura lisa y estriada. Es posible utilizar a los anestésicos a una concentración que produce pérdida de la conciencia, debido a que el sistema reticular activador (SRA) es una de las formaciones nerviosas más sensibles a estos agentes. El SRA es una parte del encéfalo responsable de la conciencia.⁹

Un buen anestésico debe reunir las siguientes características¹:

- Facilidad de aplicación
- Inducción suave
- Toxicidad mínima
- Metabolización y eliminación rápidas
- Carencia de efectos secundarios
- Fácil adquisición y almacenamiento
- Costo accesible

Para conocer los tipos de anestésicos es necesario contar con los siguientes criterios que nos permitan tener un mayor conocimiento de cada sustancia.

Características generales

- Estructura química
- Efectos
- Vía de administración
- Metabolismo
- Recomendaciones
- Posología
- Farmacocinética
- Interacciones medicamentosas
- Usos por especie

1.2 Ketamina

El clorhidrato de ketamina fue sintetizado por Calvin Stevens en 1963 con la intención de sustituir al Sernyl (fenciclidina) por un producto más seguro y médicamente más útil. Fue escogido entre doscientos derivados de la fenciclidina al constatarse que era bastante menos tóxica que esta, su acción era más rápida, breve y sus efectos psicoactivos eran menos pronunciados.¹⁰

En 1965 Edward Domino la administra por primera vez a humanos y en 1970 la Food and Drug Administration (FDA) aprueba su uso médico y veterinario. Su uso está indicado en pacientes con alto riesgo de *depresión de las funciones vitales* (niños y ancianos), y en los que han de someterse a procedimientos repetidos: tratamiento de quemaduras y cirugía plástica y reconstructiva. Sin embargo, el 90% de la ketamina utilizada legalmente, se destina a la clínica veterinaria, donde según la FDA estaría indicada su uso en gatos y primates, aunque en la práctica se utiliza con muchos otros animales.^{11,12}

En el caso de los roedores, se produce una depresión respiratoria grave tras la administración de las dosis más altas, las cuales son necesarias para producir la anestesia quirúrgica.¹¹

En el siguiente cuadro se reportan las dosis de ketamina para roedores (Cuadro 1).

Cuadro 1. Dosis reportadas de ketamina en diferentes roedores^{13, 14}

Especie	Dosis (mg/kg)
Rata	50-100 mg/kg i/p
Ratón	100-200 mg/kg i/p
Cobayo	40-70 mg/kg i/p
Hámster	100-200 mg/kg i/p

1.2.1 Propiedades fisicoquímicas

La ketamina es una arilciclohexilamina químicamente relacionada a fenciclidina (PCP). Su nombre químico es *clorhidrato de 2-(2-clorofenil) 2-(metilamino ciclohexanona)*; $C_{13}H_{16}ClNO$ (ver Figura 1). Es una sal cristalina blanca, soluble en agua, estable a temperatura ambiente. Su peso molecular es 237.73 g/mol y posee un punto de fusión de 258-261°C. En su presentación farmacéutica (ver Figura 2), aparece como un líquido inyectable, incoloro, transparente y estable a temperatura ambiente, su pH comercial es aproximado a 3.5-5.5. Se encuentra disponible en solución de cloruro de sodio al 10, 50 y 100 mg/mL con cloruro de benzetonio como conservador.^{3,15,16}

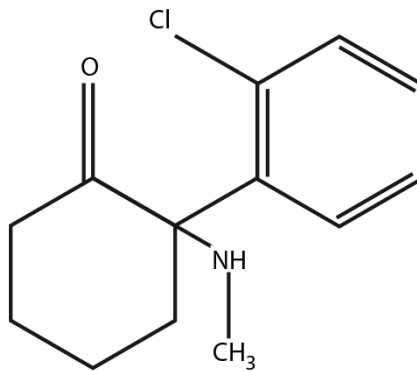


Figura 1. Estructura Química de la Ketamina: 2-(2-clorofenil) 2-(metilamino ciclohexanona). Tomado de: Budavari S. The Merck Index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biological 14^a ed. United States of America; 1996.¹⁷



Figura 2. Presentación comercial del clorhidrato de ketamina

1.2.2 Propiedades farmacológicas

El fármaco produce un estado de anestesia disociativa caracterizado por catalepsia, amnesia y analgesia, con o sin pérdida de la conciencia (hipnosis).⁷ Se caracteriza por ser un anestésico intravenoso que posee efectos analgésicos, la capacidad de producir estimulación cardiovascular y ser un broncodilatador, propiedades que la hacen útil para ciertos procedimientos pediátricos y para anestésiar a pacientes con riesgo de hipotensión y broncospasmo. Sin embargo, la ketamina produce como efectos no deseables un marcado incremento del flujo sanguíneo cerebral, del consumo de oxígeno y de la presión intracraneana.¹⁷ Se le ha asociado con desorientación en el periodo posoperatorio, alucinaciones sensitivas y perceptuales y sueños vívidos, llamados fenómenos de emergencia.⁹

En la ketamina a diferencia de los fármacos tradicionales (barbitúricos o narcóticos), se produce la anestesia por la disrupción funcional (disociación) del Sistema Nervioso Central. Se produce una depresión del sistema talamocortical (supresión o alteración de la información auditiva y somatosensorial) junto a una activación del sistema límbico (estimulación de la corteza visual), dando lugar a un estado de inconsciencia en el que la persona no está dormida sino desconectada de su cuerpo y de su entorno.¹⁸

En el plano neuroquímico, la acción de la ketamina parece estar determinada, por el bloqueo de los canales de los receptores de la N-metil-D-aspartato (NMDA), implicados en la coordinación e integración de las funciones corporales y la mente consciente, por lo cual se impide la conexión de las neuronas con el neurotransmisor glutamato, que cumple una función fundamental en las áreas cerebrales que regulan la memoria, la emoción, el lenguaje, la personalidad y la capacidad de aprender de la experiencia.¹⁸

Por otra parte, la ketamina es un fármaco muy lipofílico que se distribuye rápido en los órganos bien perfundidos, incluyendo el cerebro, riñones e hígado. Atraviesa la barrera placentaria y hematoencefálica. Se metaboliza en el hígado a norketamina, que tiene una reducida actividad en el SNC; la norketamina luego se metaboliza y elimina por orina y bilis.³

Debido a la alta incidencia de fenómenos psíquicos no se favorece del todo su uso. Sin embargo, el uso de dosis bajas de ketamina, en combinación con otros anestésicos intravenosos o inhalados es una alternativa cada vez más popular a los analgésicos opioides para minimizar la depresión ventilatoria.¹³

Se menciona a continuación las propiedades fisicoquímicas y farmacológicas de la xilazina.¹³

1.3 Xilazina

La xilazina fue reportada como el primer \square_2 agonista en ser usado como sedante y analgésico en medicina veterinaria. Sus principales efectos fisiológicos ocurren a nivel de los sistemas cardiovascular y respiratorio.¹⁸ En 1969 Katherine Clarke en Inglaterra describe el uso clínico de la xilazina en el ganado equino y el vacuno.²

La xilazina se caracteriza por presentar propiedades cardiodepresoras y arritmogénicas, estos efectos son modificados por acción del sistema nervioso autónomo, produciéndose una disminución en la actividad simpática y un aumento del tono parasimpático a nivel central.¹³

1.3.1 Propiedades fisicoquímicas

La xilazina se encuentra en forma de cristales incoloros. Su nombre químico es *N*- (2,6- Dimetilfenil)- 5,6-dihidro-4H-1,3-tiazin-2-amino (Figura 3).¹ Su peso molecular es 220.34g/mol. Posee un punto de fusión de 140.14°C. La xilazina es soluble en benceno, acetona, cloroformo y ligeramente soluble en éter de petróleo.¹⁶ En su presentación farmacéutica cada ml contiene: clorhidrato de xilazina equivalente a 100mg de xilazina vehículo c.b.p. 1mL (ver Figura 4).

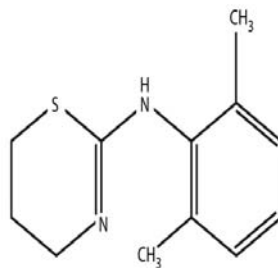


Figura 3. Estructura Química de la xilazina: *N*- (2,6- Dimetilfenil)- 5,6-dihidro-4H-1,3-tiazin-2-amino. Tomado de: Budavari S. The Merck Index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biological 14^a ed. United States of America; 1996.¹⁷



Figura 4. Presentación comercial del clorhidrato de xilazina

1.3.2 Propiedades farmacológicas

La xilazina es un sedante, relajante muscular y analgésico no narcótico de corta duración. Con respecto a su mecanismo de acción la xilazina es un agonista α_2 adrenérgico. Su efecto relajante muscular se basa en la inhibición de la transmisión de impulsos al músculo a nivel del Sistema Nervioso Central (SNC). La excreción ocurre de 2-4hrs después de administrarla.¹

Se ha descrito que la xilazina causa hiperglucemia y diuresis pronunciada. A altas dosis producen depresión cardiovascular y respiratoria, arritmias cardíacas tras la administración de xilazina. Puede causar una grave depresión respiratoria si se administra en combinación con barbitúricos o alfaxalona/alfadolona.²⁰

Su uso en animales de laboratorio es por lo general en combinación con ketamina para producir una anestesia quirúrgica. Reportándose una dosis de 90+5mg/Kg de ketamina + xilazina respectivamente vía intraperitoneal en ratas, observándose buena analgesia. Debido a que la asociación ketamina con xilazina, trae como consecuencias que varios factores desfavorables puedan ser modificados y aún bloqueados, cuando son administrados, es así por ejemplo que la depresión respiratoria es menos deprimida que cuando actúa la xilazina sola.¹⁵

A continuación se muestran las dosis de ketamina + xilazina que se reportaron para roedores (Cuadro 2).

Cuadro 2. Dosis reportadas de ketamina + xilazina en diferentes roedores¹⁵

Especie	Dosis (mg/Kg)
Rata	90 + 5 mg/kg i/p
Ratón	50-200 + 5-10 mg/kg i/p
Cobaya	20-40 + 3-5 mg/kg i/p
Hámster	50-150 + 5 mg/kg i/p
Jerbo	50-70 + 2-3 mg/kg i/p

Es importante considerar los factores que alteran la respuesta a los fármacos cuando se emplean animales de laboratorio. A continuación se mencionan algunos de los factores que modifican la respuesta de un fármaco.

1.4 Factores que modifican la respuesta de un fármaco

Los factores que determinan las variaciones en la respuesta a los fármacos en animales de laboratorio son: peso corporal, edad, sexo, genética, estado fisiológico, ritmos biológicos y presencia de otros fármacos, estas variaciones pueden generar que se presente ineficacia terapéutica y toxicidad.²¹

1.4.1 Peso corporal

La magnitud de la respuesta farmacológica está en función de la concentración del fármaco en el sitio de acción y dicha concentración depende de diversos factores farmacocinéticos (*Liberación, Absorción, Distribución, Metabolismo y Eliminación*). Por lo cual la dosis de los medicamentos debe ser proporcional al peso corporal. Para reducir la variación en los efectos producidos por un fármaco, la dosis específica debe calcularse en base a la cantidad de kilogramo por peso corporal.²¹

1.4.2 Sexo

Por su menor talla, las hembras suelen requerir dosis más bajas que los machos. Existe una diferencia significativa en la proporción de la masa corporal entre los dos géneros. En comparación con los machos, en las hembras adultas el tejido adiposo representa un porcentaje mayor que el de agua en el peso total, por lo tanto se requiere variar la dosis a administrar para obtener un efecto de la misma magnitud.

Varios parámetros farmacocinéticos también explican las diferencias de género: en la hembra, el tiempo de vaciamiento gástrico es mayor, tienen mayor proporción de grasa corporal, el volumen plasmático es menor; también se observan diferencias en niveles plasmáticos de proteínas, mecanismos de transporte, eliminación y variación en el metabolismo de fármacos.²¹

1.4.3 Metabolismo de fármacos

Una de las principales enzimas implicadas en el metabolismo y degradación de fármacos en mamíferos es el citocromo P450, esta constituye una superfamilia enzimática involucrada en el metabolismo oxidativo de compuestos endógenos como esteroides, ácidos grasos o vitaminas liposolubles (A y D), y en el metabolismo de xenobióticos, es decir, todo compuesto químico que no forme parte de la composición de los organismos vivos, entre los que se encuentran diversos fármacos, carcinógenos, pesticidas, alcaloides, etc.²²

Se identificó en 1958 como un pigmento celular reducido y unido a membrana con un pico de absorción inusual a los 450 nm. Posteriormente, en 1964, se sugiere el nombre de citocromo P450 por Omura y Sato.²²

La superfamilia del citocromo *P450* se caracteriza por ser hemoproteínas capaces de transportar electrones. Al ser hemoproteínas, poseen una parte proteica (apoproteína) y un grupo hemo(grupo prostético) donde se localiza un átomo de hierro. El citocromo P450 funciona como una monooxigenasa, es decir, cataliza reacciones en las que solamente se incorpora uno

de los átomos del oxígeno y el otro se reduce a H₂O. Además, precisa de dos sustratos para actuar como reductores de los dos átomos de la molécula de O₂. El principal acepta uno de los oxígenos y un cosustrato proporciona átomos de H para reducir el otro a H₂O. Como se muestra a continuación: $RH + NADPH + O_2 + H^+ \longrightarrow ROH + NADP^+ + H_2O$, donde RH corresponde al sustrato principal, mientras que NADH o NADPH corresponden al cosustrato. La intervención del citocromo P450 permite una hidroxilación del sustrato que tiene como consecuencia la formación de productos más solubles en agua y generalmente de derivados farmacológicos menos potentes que pueden ser excretados directamente o después de una conjugación con el ácido glucurónico, el cual se caracteriza por ser altamente hidrosoluble, por lo cual es común emplearlo conjugado a toda clase de sustancias xenobióticas a fin de facilitar su excreción, entre otros.²²

En la Figura 5 se muestra un esquema del mecanismo de acción, el cual consistente en la hidroxilación de un sustrato orgánico RH a R-OH a expensas de un átomo de una molécula de oxígeno. El otro átomo es reducido a H₂O por los equivalentes de reducción proporcionados por el NADH o NADPH, habitualmente transferidos al P450 directamente o vía citocromo b₅, gracias a una flavoproteína oxidoreductasa.²²

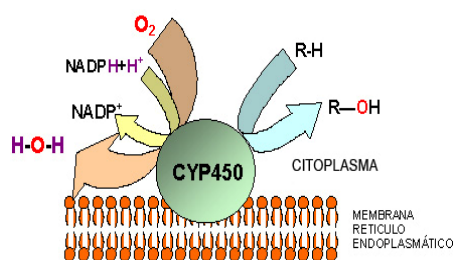


Figura 5. Mecanismo de acción del citocromo P450. Hidroxilación de una droga liposoluble por acción del citocromo P450. El producto ROH aumenta la solubilidad en agua, facilitando su excreción.²¹

1.4.4 Ritmos biológicos

Los ritmos biológicos se refieren a los cambios cíclicos que experimentan los distintos procesos fisiológicos y, que ocurren regularmente en un intervalo de tiempo determinado. De acuerdo a su periodicidad, se dividen en tres ²³:

- a) Ritmos Ultradianos: Son los que se presentan varias veces en un día, como por ejemplo: la secreción de neurotransmisores, ritmo respiratorio, ritmo cardiaco.
- b) Ritmo circadianos: El término circadiano es una palabra cuya etimología significa: circa= alrededor de; diano= día, estos ritmos tienen una duración cercana a 24 ambientales. Estos ritmos regulan nuestra actividad metabólica, hormonal y conductual diaria. Presentando cambios los sistemas biológicos de manera rítmica en periodos de 24h, por lo cual también puede ser modificado el efecto de los fármacos según el momento del día en que son administrados. Estas variaciones pueden ser de tipo farmacocinético (cambios en la velocidad y grado de absorción, distribución, biotransformación y eliminación) y de tipo farmacodinámico (variaciones rítmicas en las características, número de receptores funcionales, o ambos a la vez).

- c) Ritmos Supradianos: Hacen su aparición con menos frecuencia, es decir no se presentan diariamente. Por ejemplo: el ciclo menstrual, los estados de ánimo que se pueden marcar en las diferentes estaciones del año.²³⁻²⁴

1.4.5 Genéticos

Existen ciertas variaciones genéticas, las cuales explican un número importante de diferencias en el tipo o en la magnitud de la respuesta farmacológica, en los efectos secundarios y en las interacciones farmacológicas. La idiosincrasia de cada individuo puede estar relacionada genéticamente con las proteínas receptoras que dependen del metabolismo de los fármacos. Estas variaciones genéticas pueden causar respuestas inesperadas a fármacos, de forma cualitativa y/o potencialmente que me pueden originar toxicidad. Este tipo de reacciones, que son independientes de la dosis, se pueden presentar con cualquier medicamento.²¹

1.4.6 Presencia de otros fármacos

La respuesta biológica a un determinado fármaco puede ser modificada significativamente por la presencia de otro fármaco en el organismo, administrado simultáneamente o con anterioridad. A este fenómeno se le denomina interacción farmacológica. Cuando dos principios activos se administran simultáneamente, el efecto proporcionado puede ser mayor, igual, o menor que la suma de los efectos que se producen con la administración individual. Se le denomina efecto aditivo (sumación) al que representa la suma de los efectos que causa cada uno de los fármacos cuando se administran por separado. Se denomina sinergismo cuando la respuesta es mayor que la suma de los efectos producidos por cada uno de los fármacos. El término potenciación se asigna cuando la combinación de un fármaco activo y uno sin la misma propiedad farmacológica da como resultado un aumento significativo en la respuesta generado por el primero. Así mismo, se denomina antagonismo al fenómeno que se observa cuando la presencia de un fármaco interfiere con la respuesta biológica a otro.²¹

Las principales interacciones entre los fármacos son de tipo cinético, cuando una sustancia interfiere o favorece la llegada y concentración de otra en su sitio de acción (modificación de tasas de absorción, grados de unión a proteínas plasmáticas, velocidad de biotransformación y eliminación), o de tipo dinámico, cuando una sustancia modifica el efecto de otra sin alterar la concentración en el sitio de acción. En este caso, el ejemplo más claro lo constituyen los fármacos que compiten con el mismo receptor.¹⁸

Uno de los requisitos previos para el empleo responsable de los animales en la investigación es el conocimiento de las características biológicas de la especie que se va utilizar, así como de las condiciones necesarias para su manejo.

El alojamiento, alimentación y cuidado de la especie seleccionada deben de ser los apropiados para satisfacer sus necesidades.⁵

1.5 Rata Wistar

A continuación se mencionan algunos de los aspectos biológicos de la rata Wistar utilizada en este estudio. Se seleccionó la rata de laboratorio cepa Wistar, debido a que la rata es uno de los animales de laboratorio más empleado en la investigación, ya que presenta un tamaño pequeño, ciclo de vida y períodos de gestación cortos. La rata de laboratorio, *Rattus norvegicus* es un roedor cuyo ancestro es la rata gris o noruega. Esta rata es originaria de las regiones templadas de Asia y debido a su cercana asociación con el hombre, se ha extendido por todo el mundo. La rata fue el primer mamífero en ser domesticado con fines científicos. Su empleo en la investigación ha sido posible debido a su tamaño pequeño, ciclo de vida y período de gestación cortos, facilidad de manejo y resistencia a enfermedades.²⁵ La taxonomía de la rata (Cuadro 3).

Cuadro 3. Taxonomía de la rata (*Rattus norvegicus*)²⁵

Taxonomía	
Clase	Mamífera
Orden	Rodentia
Suborden	Miomorfa
Familia	Muridae
Subfamilia	Murinae
Género	Rattus
Especie	Norvergicus

1.5.1 Características generales

El período de vida de la rata es de 2 a 3 años (Cuadro 4) para ratas mantenidas en un ambiente convencional. Existen diferencias de longevidad de acuerdo con la cepa.²¹ A continuación se muestran las características generales.²⁵

Cuadro 4. Características generales de la rata²⁵

Características	
Ciclo de vida	2.5 - 3 años
Número de cromosomas	42
Consumo de alimento	28 - 30g/día
Consumo de agua	80 - 110mL/kg/día
Parámetros fisiológicos normales	
Temperatura rectal	37
Ritmo respiratorio	83 - 113/min
Ritmo cardiaco	373-392 latidos/min
Valores hematológicos normales	
Eritrocitos	7.2-9.6 x 10 ¹² /L
Hematocrito	35-45%
Hemoglobina	12-18 g/dL

La rata posee glándulas mamarias y pelo que son características de la clase *Mammalia*. A lo largo del lado ventral del pecho y abdomen de la hembra, se encuentran seis pares de pezones que son empleadas para alimentar a sus crías. El pelo, que cubre a la rata, se denomina pelaje, proporciona tanto protección como aislamiento a la piel. La cola, principalmente es utilizada como un órgano balanceador, está cubierta de pequeñas escamas sobrepuestas. Su cabeza es alargada y termina en una nariz puntiaguda, la cual es muy sensible al tacto.¹⁷ Su aparato para roer es similar al de otros roedores. Los incisivos tienen forma de cincel y crecen en forma continua, poseen poderosos músculos mandibulares, un gran diastema (espacio que se encuentra entre los incisivos y los molares). La rata es de hábitos nocturnos, realizando durante la noche su mayor consumo de alimentos, es un animal coprófago, ingiriendo las heces directamente del ano o del piso de la jaula.²⁶

La rata no posee vesícula biliar, presenta un páncreas difuso. El ciego está muy desarrollado y tiene una función similar a la del rumen en la digestión microbiana de la celulosa. La rata carece de la capacidad para vomitar. No son frecuentes las peleas entre los adultos; éstas generalmente se presentan entre los sementales y los jóvenes o entre las hembras postparturientas.²⁶

1.5.2 Aspectos reproductivos

Las hembras ratas, maduran rápidamente y alcanzan la pubertad, es decir, la madurez sexual en 72 días. La primera ovulación es a los 77 días de vida. Su periodo de gestación es de 21 o 22 días. Las ratas presentan un alto rango de fertilidad, teniendo de 7 a 10 camadas por año, compuesta por 5 a 14 neonatos con un peso promedio de 2.4 a 3g. Las ratas nacen ciegas, desnudas por lo que la temperatura de los recién nacidos es inestable. A los 10-11 días de edad las ratas abren los ojos y comienzan a ingerir alimento sólido.²⁵

La rata hembra es poliéstrica continua, es decir, presenta ciclos estrales durante todo el año con ligeras variaciones estacionales. La duración del ciclo estral (periodo durante el cual, busca y acepta al macho para propósitos de crías) es de 4 a 5 días. La vida productiva de una hembra es de 350 a 440 días.²⁴

Por otra parte la utilización de animales de laboratorio implica el conocimiento y aplicación de los correctos métodos de sujeción, evitando ocasionar estados de sufrimiento y/o estrés. Este manejo adecuado permite obtener reproducibilidad en los resultados y el desarrollo de una investigación ética y segura. Por lo cual se indican brevemente los correctos métodos de sujeción para el manejo de rata de laboratorio.²⁷

1.5.3 Método de sujeción

La rata debe manejarse con suavidad. Debido a que la piel de la cola puede desgarrarse, la rata debe levantarse del tercio cercano a la base de la cola por periodos cortos (Figura 6). Este manejo no se recomienda para ratas hembras preñadas.²⁵



Figura 6. Método de sujeción de la rata durante periodos cortos²⁵

La rata se debe cargar con la mano de manera gentil pero firme, debe tomarse alrededor del dorso, poniendo la palma de la mano sobre la espalda del animal, con el dedo pulgar empujar a la altura del codo del miembro anterior izquierdo hacia el frente del hocico, el miembro anterior derecho quedara sujeto entre el dedo índice y anular. Sujetar los miembros posteriores poniendo un dedo entre los dos miembros y sujetando con el pulgar, anular y el índice entre los dos miembros (Figura 7).²⁵

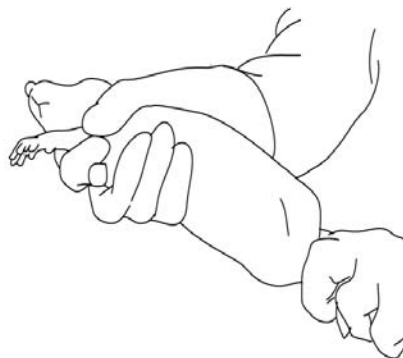


Figura 7. Método de sujeción de la rata.²⁵

1.5.4 Vías de administración

Las principales vías de administración en esta especie son²⁸:

Vía esofágica

Se mantiene al animal en forma vertical, sujetando todo el cuerpo, se pone la sonda en el hocico y con movimientos suaves y firmes se introduce la sonda sintiendo los movimientos de deglución del animal. Los volúmenes requeridos para esta especie deben administrarse lentamente para evitar el reflujo del líquido y/o la aspiración del mismo. Una vez administrado el volumen, debe retirarse la sonda lenta y suavemente.²⁸

Vía intramuscular (i/m)

Se realiza en la parte muscular de las patas traseras, en la región glútea, formando un ángulo de 35 a 40° en forma paralela al fémur.²⁸

Vía subcutánea (s/c)

Una vez que la rata esté sujeta, se coloca la aguja casi en forma paralela a la piel y se introduce con el bisel hacia arriba, llegando al tejido subcutáneo. Se debe considerar el volumen a introducir, si el volumen es mayor a 3mL se recomienda distribuir en un área extensa.²⁸

Vía intravenosa (i/v)

Para esta vía se pueden utilizar contenedores mecánicos, los cuales permiten una buena sujeción y permite trabajar con la cola del animal. Se dilatan las venas de la cola en la porción más alejada del cuerpo con xilol o un poco de agua caliente, se coloca la aguja con el bisel hacia arriba y se introduce en las venas, se verifica que se está administrando correctamente al aplicar un poco de la solución, si corre con facilidad indica que está bien aplicada, si se hace un hematoma o no corre con facilidad no se está dentro de vena por lo que hay que intentarlo en otra región de la vena. En esta región la administración puede ser sin anestesia previa.²⁸

También se puede llevar a cabo en venas sublinguales, en ratas macho en la vena del pene del animal, para éste tipo de administración se recomienda anestesiarse al animal.

Vía intraperitoneal (i/p)

Esta vía consiste en la administración en la cavidad peritoneal, se divide la zona abdominal imaginariamente en cuatro secciones, se administra la inyección en cualquiera de los dos cuadrantes o regiones posteriores, inclinando a la rata e introduciendo la aguja en un ángulo aproximado de 35° (ver Figura 8).²⁵ Para verificar que se está administrando correctamente en el peritoneo, al jalar el embolo de la jeringa debe entrar aire, si esto no ocurre se debe tratar nuevamente.²⁹

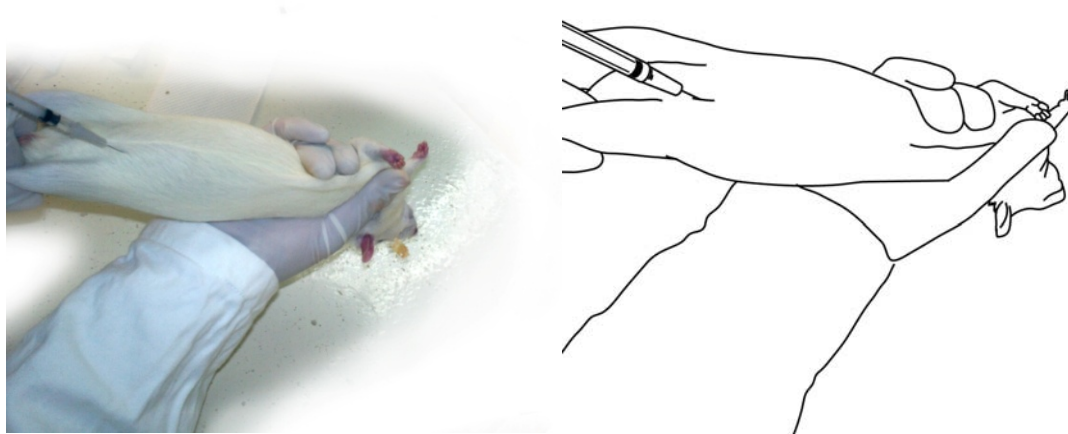


Figura 8. Vía de administración intraperitoneal en rata.²⁵

1.5.5 Métodos de identificación y registro

Los métodos empleados pueden ser de tipo permanente o temporal.³⁰

Los métodos permanentes utilizados son:

- Tatuaje
- Muesqueo
- Aretaje
- Pulseras

Las muescas en las orejas es uno de los métodos más utilizados para marcaje permanente. Se realiza por medio de sacabocados diseñados para tal propósito siguiendo un código predeterminado por el laboratorio (ver Figura 9), lo que permite la identificación de los animales en forma muy eficiente. Este sistema es de fácil lectura y no requiere de la sedación de los animales ya que, bien ejecutado, es poco traumático. Otro método empleado para la identificación son los tatuajes permanentes (con tinta), los cuales suelen realizarse en las orejas o en la cola, ya sea con pinzas metálicas o con lápices electrónicos.³⁰

Estos métodos permanentes se utilizan cuando los animales se utilizan por periodos largos de tiempo.²⁸

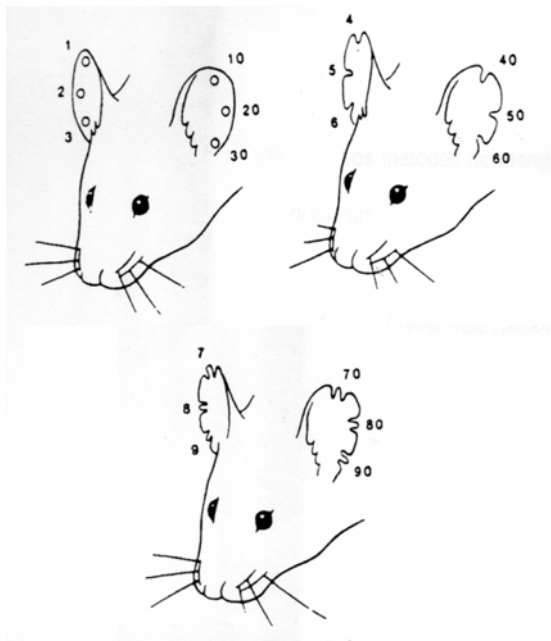


Figura 9. Se muestra el código numérico predeterminado por el laboratorio para la identificación de los animales.²⁸

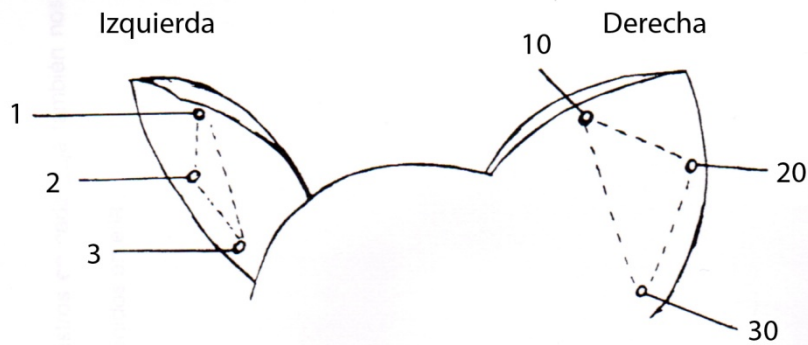


Figura 10. Se muestra la numeración en triángulo.²⁸

Los métodos de identificación temporal se utilizan en experimentos de corta duración, entre los más utilizados se encuentran²⁸:

- Tintas
- Pinturas en diferentes zonas del cuerpo
- Rapado en zonas

En la rata de laboratorio para realizar este tipo de marcaje se pueden emplear plumones de tinta permanente sobre la cola, utilizándose un código de numeración predeterminado por el laboratorio (figura 11), este tipo de marcaje tiene una duración aproximada de 1 a 2 días. Siendo un método de identificación para estudios de corto plazo.²⁹

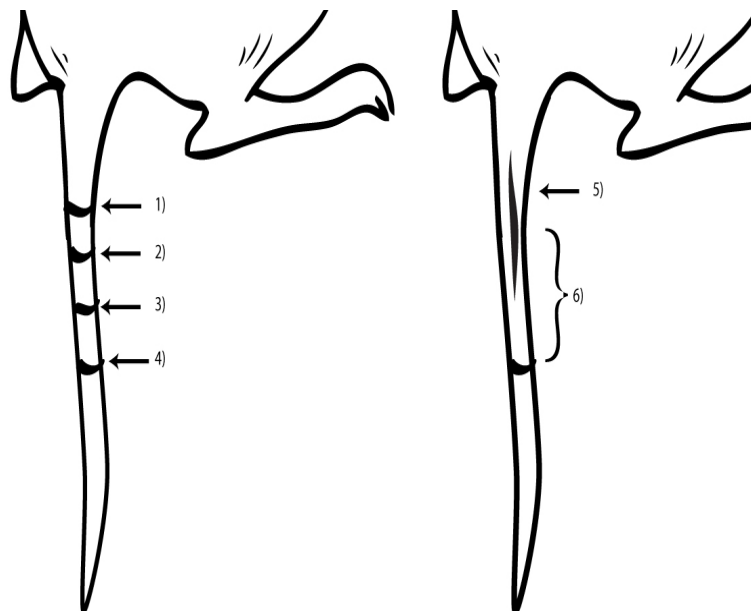


Figura 11. Se muestra el código numérico utilizado para marcaje temporal en rata. En este sistema de numeración una línea horizontal representa el número 1, el dos está representado por dos líneas, de esta forma consecutivamente hasta el número 4, posteriormente el número 5 es una línea vertical.²⁹

1.5.6 Eutanasia

La palabra eutanasia significa etimológicamente "*muerte sin dolor*", siendo el método por medio del cual se realiza el sacrificio o muerte de los animales evitando dolor y sufrimiento.³¹

No existe un solo método de eutanasia que se aplique a todas las especies y a todas las circunstancias. La selección del método debe incluir: la compatibilidad con los propósitos del protocolo experimental; la capacidad de producir inconsciencia y muerte rápidamente; su confiabilidad; y su seguridad para el personal.³²

Se pueden emplear métodos físicos y/o químicos. La selección del método dependerá de varios factores, entre los que se destacan la naturaleza del estudio, la especie animal involucrada y su número. Todo procedimiento de eutanasia debe cumplir con lo siguiente³²:

- Inducir la inconsciencia de los animales en un tiempo mínimo
- Ser un método confiable y reproducible.
- Ser seguro para el personal involucrado en su uso.
- Poseer compatibilidad con los requerimientos y el propósito del estudio.
- Tener un impacto ambiental mínimo.
- Ser a prueba de fallas.
- Localizarse en un sitio apartado de los cuartos de animales.³²

Los métodos físicos de eutanasia que se realizan principalmente son: dislocación cervical y decapitación, éstos métodos se pueden aplicar en animales pequeños de fácil manejo y con características anatómicas compatibles con el método seleccionado, en animales grandes de granja, zoológico o silvestres y cuando otros métodos puedan invalidar los resultados experimentales o interferir con el uso posterior de tejidos o fluidos corporales.³²

Los métodos químicos de eutanasia se llevan a cabo principalmente mediante una sobredosis de anestésicos o mediante el uso de gas de dióxido de carbono. Mediante el uso de una sobredosis de anestésicos el animal no siente molestia, existe sedación, hipnosis y muerte, sin embargo se acumulan dichas sustancias en tejidos, alterándose los resultados de las muestras. El método de dióxido de carbono (CO₂) es el método más recomendable para la eutanasia de varias especies de mamíferos tales como: ratas, ratones, cobayos, perros, hámsteres, conejos y gatos, debido a su rápido efecto depresivo y anestésico que conduce a la muerte por hipoxia en pocos minutos, a que está fácilmente disponible en cilindros de gas comprimido, a que es barato, no inflamable, no explosivo, seguro de operación para el personal, no se acumula en los tejidos y no deforma la arquitectura celular. La fuente de CO₂ deben ser cilindros de gas comprimido liberado en una cámara cerrada (figura 12).³²



Figura 12. Cámara de CO₂. La fuente del compuesto deben ser cilindros de gas comprimido liberado en una cámara cerrada³²

1.6 Curva dosis respuesta – cuantal

El empleo de cualquier medicamento o fármaco depende del conocimiento de la dosis correcta, se utilizan métodos como una curva dosis respuesta cuantal. Este método nos permite evaluar algunos de los parámetros farmacológicos de los medicamentos utilizados.

Las respuestas farmacológicas como sedación, hipnosis y muerte pueden ser consideradas de tipo “*todo o nada*”, es decir que pueden ocurrir o no, a esto se llama una respuesta cuantal.²¹

La curva cuantal, o de todo o nada, expresa la frecuencia con la cual una dosis determinada de un fármaco provoca una respuesta establecida en una población definida. Por lo tanto, es una curva que describe la distribución de las dosis mínimas que producen un efecto dado. La construcción de esta curva implica administrar cada una o varias dosis a grupos de individuos, determinando cuántos de éstos (proporción) presentan el efecto buscado.²¹

Cuando se utiliza una población, los porcentajes se usan para determinar puntos en una gráfica en la que las ordenadas representan la frecuencia de una respuesta y las abscisas la dosis administrada. En su forma básica, la curva dosis-respuesta cuantal toma la forma de una distribución normal o gaussiana (Figura 13a). Al sumar estas respuestas, la distribución de la frecuencia acumulada resultante constituye una curva dosis-efecto cuantal (curva normal acumulada o integrada) de la proporción o porcentaje de individuos que presentan el efecto que se gráfica en función de la dosis administrada (Figura 13b). Esta curva es asimétrica, pero se obtiene una curva simétrica al graficar la distribución de frecuencias de estas respuestas contra el logaritmo de la dosis (Figura 13c).²¹

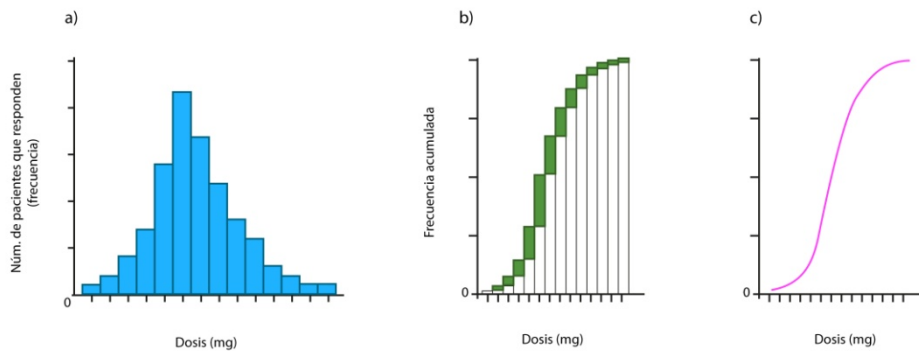


Figura 13. a) Histograma de distribución de frecuencias que muestra la relación que existe entre dosis y efecto, b) Histograma de distribución acumulada que se obtiene cuando la altura de cada barra va agregándose a la suma de las anteriores, c) al utilizar el logaritmo de la dosis para las abscisas, en lugar de las dosis mismas, la curva resultante es simétrica.²⁰

Las curvas normales son generalmente lineales en la parte central, que comprende del 16 al 84% de la población estudiada; sin embargo, sus extremos no son lineales. Las curvas dosis-respuesta pueden hacerse lineales, al trazar los datos en una gráfica en la que las ordenadas expresan múltiplos de las desviaciones equivalentes normales, que se pueden expresar en probits.²¹

1.6.1 Análisis de Probits

Este método se basa en la hipótesis de que la probabilidad de respuesta p , debida al estímulo, depende no sólo de la dosis aplicada x sino también de los parámetros de una población normal $N(x; \mu, \sigma)$, donde $x = \log_{10}$.³³

Mediante el cambio de variable

$$\frac{x - \mu}{\sigma} = u$$

La probabilidad de respuesta esperada se exprese de la siguiente forma:

$$P = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^u e^{-\frac{u^2}{2}} \cdot du$$

El término “*probit*” se introdujo por Bliss (1934) para indicar la abscisa correspondiente a la probabilidad p de una distribución de media 5 y desviación típica 1, utilizándose la siguiente transformación³⁴:

$$Y = 5 + u$$

$$Y = 5 + \frac{x - \mu}{\sigma}$$

Donde:

Y: porcentaje de población afectada.

x: intensidad del factor causante del daño.

μ : valor medio de la distribución normal.

σ : desviación típica de la distribución normal.

Así, el problema de estimar los parámetros μ y σ de la población base es equivalente al de obtener la ecuación de “probit”.³⁴

$$Y = \alpha + \beta x$$

Esta metodología es ampliamente utilizada porque mediante la utilización de las unidades Probit (UP) permite pasar de una curva de distribución normal a una línea recta (ver Figura 14) con parámetros fácilmente calculables como DE_{50} , DL_{50} , MS e IT (Anexo 2).⁵

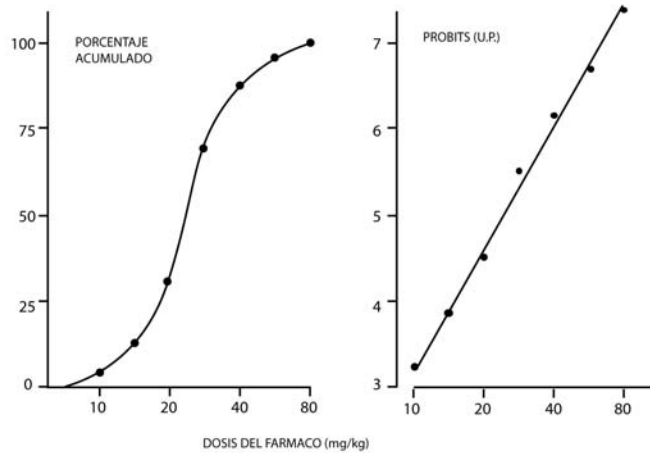


Figura 14. Transformación de curva sigmoidea de dosis respuesta cuantil (izquierda) en una recta (derecha) mediante la sustitución del porcentaje de respuestas por su probit correspondiente.⁵

1.6.2 Dosis efectiva media (DE₅₀)

La dosis de una sustancia necesaria para producir un efecto específico en la mitad de la población (50%).³

1.6.3 Dosis letal media (DL₅₀)

La dosis de una sustancia necesaria para producir la muerte al 50% de la población.³

1.6.4 Dosis tóxica media (DT₅₀)

La dosis de una sustancia necesaria para producir un efecto tóxico particular en la mitad de la población (50%).³

1.6.5 Índice terapéutico (IT)

Señala el grado de selectividad que posee un fármaco para generar los efectos buscados. Este es el cociente o razón entre DL₅₀ Y DE₅₀ (Figura 15). Siendo el índice terapéutico una medida de la seguridad de un fármaco, un valor elevado indica que existe un amplio margen entre las dosis que son efectivas y las que son tóxicas. En cambio, cuando el índice terapéutico es bajo se presentan un límite de concentraciones en el que se sobreponen respuestas efectivas y tóxicas, es decir, algunos pacientes presentan el efecto tóxico mientras que otros logran el efecto deseado. Cuando el índice terapéutico de un fármaco es bajo las concentraciones tóxicas y efectivas son similares por lo cual es más probable que se presenten respuestas toxicas a dosis que aun son efectivas.³

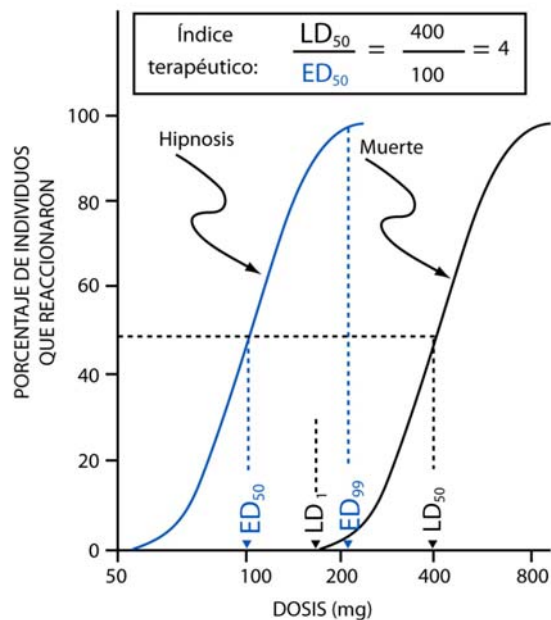


Figura 15. Curva dosis- respuesta cuantal, se muestra el cálculo del índice terapéutico, dado por las proporciones entre DL50 y DE50. El valor 4 obtenido, significa que el fármaco evaluado es muy seguro, puesto que para producir un efecto tóxico, sería necesario administrar 4 veces la dosis efectiva.³

1.6.6 Margen de Seguridad (MS)

Es la relación existente entre la dosis más baja que produce toxicidad (DL₁) y la dosis más alta que produce una respuesta terapéutica máxima (DE₉₉). $MS = DL_1 / DE_{99}$.³

Un margen de seguridad de valor elevado indica un amplio margen entre la dosis que produce el efecto no deseado y las dosis terapéuticas. Disminuyendo la seguridad del fármaco cuando el valor de este parámetro es menor de la unidad.²²

La investigación experimental emplea métodos estadísticos, entre los cuales se encuentra el análisis de varianza, este método se utiliza cuando se tienen más de dos muestras o grupos en el mismo planteamiento y permite verificar si hay diferencias estadísticamente significativas entre las medias.³⁵ En el siguiente tema se menciona brevemente las características de este método estadístico

1.7 Análisis de varianza (ANOVA)

El análisis de varianza es un método estadístico desarrollado por R.A. Fisher. Esta técnica permite comprobar si existen diferencias estadísticamente significativas entre más de dos grupos, es decir, permite demostrar si las diversas muestras se pueden considerar muestras aleatorias pertenecientes a la misma población.^{35,36}

Siendo este método apropiado cuando se tienen más de dos grupos en el mismo planteamiento, comprobándose si existen diferencias entre las medias con base en las varianzas. Estableciéndose dos hipótesis: H_0 , el efecto promedio de todas las medias poblaciones son iguales y H_a , que al menos un par de efectos promedios son diferentes entre sí, es decir^{36,38}:

$$H_0 = \mu_1 = \mu_2 \dots \mu_k \quad H_a = \mu_i \neq \mu_j \dots \mu_1 \quad i \neq j$$

Se establecen dos variables en este modelo la variable de respuesta o variable dependiente y el factor o variable independiente. En general, los valores de un factor seleccionado para investigar se llaman niveles del factor, o tratamientos.³⁹

Esta técnica se basa en el modelo siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j$$

Donde Y_{ij} representa el resultado de la j -ésima repetición en el i -ésimo tratamiento; μ representa el efecto promedio de todos los posibles tratamientos; α_i el efecto del i -ésimo tratamiento y β_j una medición del error aleatorio para cada uno de los valores de la respuesta.³⁶

La aplicación de este método requiere que los datos cumplan los siguientes supuestos:

Para cada población, la variable de respuesta está normalmente distribuida.

La varianza de la variable de respuesta, representada por σ^2 , es la misma para todas las poblaciones (homogeneidad).

Las observaciones deben ser independientes.³⁹

En un experimento donde todo está completamente controlado y sólo hay efecto del tratamiento en estudio, se espera que la variación dentro de grupos se deba exclusivamente al azar. Reduciéndose a comparar dos varianzas³⁹:

- Varianza entre los grupos
- Varianza dentro de los grupos

Para realizar la comparación de dos varianzas se dividen éstas calculando la razón F de Snedecor:

$$F = \frac{\sigma^2_{\text{mayor}}}{\sigma^2_{\text{menor}}}$$

En el denominador se coloca la varianza considerada en cada caso como normal o aleatoria, ésta corresponde a la varianza dentro de los grupos. Con respecto a la varianza que se coloca en el numerador se refiere a la varianza que se busca comparar con la que se considera normal o aleatoria, esta última expresa las diferencias entre los grupos. Por lo cual cuando el valor de F es

estadísticamente significativo significa que la varianza que corresponde a las diferencias entre los grupos es mayor que la esperada por azar.³⁸

Cuando se presentan diferencias significativas se debe aplicar un *test a posteriori* de comparaciones múltiples, se han sugerido diferentes métodos para realizar esta comprobación, sin embargo, en la mayor parte de los métodos propuestos se desconocen las probabilidades exactas de los errores de tipo I (probabilidad de aceptar diferencias significativas cuando no las hay) y de tipo II (probabilidad de rechazar diferencias cuando las hay). Entre los test de comparación múltiple se encuentran el Scheffe, el Student-Newman-Keuls y el Tukey.³⁷

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a que la anestesia general busca asegurar un estado de inconsciencia acompañado de relajación muscular y analgesia, se pretende utilizar la administración conjunta de la xilazina y la ketamina para producir estados de hipnosis para anestesia quirúrgica a menores dosis. Seleccionándose a la rata cepa Wistar, porque es uno de los modelos experimentales más utilizados en la formación académica e investigación del área química, ya que presenta un tamaño pequeño, facilidad de manejo, ciclo de vida y períodos de gestación cortos.

3. OBJETIVOS

- Evaluar el efecto anestésico de la ketamina en ratas hembra y macho cepa Wistar.
- Determinar los parámetros farmacológicos DE_{50} , DL_{50} , MS y IT de la ketamina, mediante una curva dosis-respuesta cuantitativa en ratas hembra y macho cepa Wistar.
- Evaluar las latencias de sedación de xilazina en ratas hembras y macho cepa Wistar.
- Evaluar las latencias de sedación y latencias de hipnosis de la ketamina en ratas hembras y macho cepa Wistar.
- Determinar los tiempos promedio de recuperación para las dosis de ketamina, xilazina y ketamina+ xilazina en ratas hembras y macho.

4. HIPÓTESIS DEL TRABAJO:

Si se utiliza la combinación de la xilazina + ketamina entonces se disminuyen las dosis necesarias para alcanzar estados de hipnosis para la anestesia quirúrgica en ratas hembra y macho.

5. METODOLOGÍA

Se utilizaron ratas cepa Wistar (*Rattus norvegicus*), se seleccionaron de manera aleatoria y dentro de un rango de peso de 200±50g.

Los animales empleados en este experimento provienen del Bioterio de la Facultad de Química edificio “A” y no se sometieron previamente a experimentación. Las condiciones de mantenimiento son las marcadas en la norma “Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. México” NOM-062-ZOO-1999 (Cuadro 5).³²

Cuadro 5. Condiciones de mantenimiento de ratas cepa Wistar (*Rattus norvegicus*)³⁰

Alimento	Agua y comida “ ad libitum ”
Humedad	40-70%
Temperatura	18-26°C
Luz/oscuridad/horas	12/12

Reactivos

- Clorhidrato de ketamina, Anesket ® PiSA
- Clorhidrato de xilazina, Procin ® Equus Pisa

Equipo

- Jeringas desechables estériles 1ml de plástico con aguja de acero inoxidable calibre 27 (Plastipack)
- Equipo fijo
- Marcador indeleble
- Balanza Granataria OHAUS
Fecha de calibración: 15-abril-2012
- Cronómetro digital

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

La metodología empleada durante la etapa experimental del trabajo fue la medición de latencias para diferenciar cada etapa de la anestesia, a continuación se define cada una de ellas.

Latencia de sedación (LS): Es el tiempo transcurrido desde la administración del fármaco hasta que el animal pierde la coordinación motora.⁴⁰

El estado de sedación se caracteriza por presentar depresión mínima de la conciencia médicamente controlada, que permite mantener la vía aérea permeable de modo independiente y respuesta a la estimulación física.

Latencia de hipnosis (LH): Es el periodo de tiempo desde la administración del fármaco, hasta la pérdida del reflejo de enderezamiento del animal.⁴⁰

La hipnosis se caracteriza por la depresión de la conciencia médicamente controlada, en la que el paciente no puede ser despertado con facilidad. Puede acompañarse de la pérdida parcial o total de los reflejos protectores de la vía aérea y de la respuesta a la estimulación física.⁴¹

Muerte (M): En caso de que el animal no se recupere, pierde el reflejo de enderezamiento, la frecuencia cardíaca y respiratoria, dando como resultado el deceso de animales.⁴⁰

Se siguió la siguiente metodología experimental:

1. Se formaron 9 grupos de manera aleatoria con una n=6
2. Se pesaron y marcaron mediante un marcaje temporal (Figura 11) a los animales para cada una de las dosis de ketamina que se mencionan a continuación (Cuadro 6).

Cuadro 6. Distribución de los grupos y dosis.

Grupo	Ketamina Dosis (mg/Kg)	Rata
1	15	1-6
2	30	7-12
3	50	13-18
4	90	19-24
5	100	24-30
6	130	31-36
7	200	37-42
8	230	43-49
9	260	50-55

3. Se efectuó la administración de ketamina por vía intraperitoneal (Figura 7) a cada uno de los animales y se midió el tiempo (min) de latencia de sedación e hipnosis causada por el anestésico. Además se llevó el registro de los animales que fallecieron debido al fármaco.

4. A partir de los datos recopilados, se realizó una curva dosis-respuesta cuantil (CDRC) y la construcción de una recta, se evaluaron los parámetros DE₅₀, DE₉₉, DL₁, DL₅₀, MS e IT.

5. Se llevó a cabo el análisis estadístico, mediante una prueba ANOVA, cuando los datos obtenidos no cumplían los supuestos paramétricos se realizó una prueba de Kruskal-Wallis,

para saber si existe diferencias significativas entre los grupos evaluados para la ketamina. Cuando las diferencias encontradas fueron significativas se aplicó el método de comparación múltiple de Turkey o Dunnet. Se consideró significativo un valor de $p < 0.05$. Con el objetivo de llevar a cabo el análisis de las variables se utilizaron los programas computacionales StatGraphics 2.0 y SigmaPlot 11.

6. Una vez obtenido los parámetros DE_{50} , DL_{50} , se pesaron y marcaron a los animales para cada una de las dosis de xilazina que se mencionan a continuación (Cuadro 7).

Cuadro 7. Distribución de los grupos y dosis

Grupo	Xilazina Dosis (mg/Kg)	Rata
1	1	1-6
2	3	7-12
3	5	13-18
4	7	19-24

7. Se efectuó la administración de xilazina por vía intraperitoneal (Cuadro 5) a cada uno de los animales y se medirá el tiempo (min) de latencia de sedación causada por el fármaco.

9. Se llevó a cabo el análisis estadístico, mediante una prueba ANOVA, en caso de que no se cumpla los supuestos paramétricos se realizó una prueba de Kruskal-Wallis, para saber si existe diferencias significativas entre los grupos evaluados para xilazina. Cuando las diferencias encontradas fueron significativas se aplicó el método de comparación múltiple de Tukey o Dunnet. Se considero significativo un valor de $p < 0.05$. Con el objetivo de llevar a cabo el análisis de las variables se utilizaron los programas computacionales StatGraphics 2.0 y SigmaPlot 11

10. Se pesaron y marcaron a los animales para cada una de las dosis de ketamina + xilazina, utilizándose la DE_{50} de ketamina obtenida (Cuadro 8).

Cuadro 8. Distribución de los grupos y dosis

Grupo	Ketamina	Xilazina Dosis (mg/Kg)	Rata
1		1	1-6
2	DE_{50}	3	7-12
3		5	13-18

11. Se evaluaron los tiempos (min) de latencia de sedación, hipnosis y tiempo de recuperación causada por la combinación de los anestésicos.¹² Se llevó a cabo el análisis estadístico, mediante una prueba ANOVA, cuando los datos obtenidos cumplan con los supuestos paramétricos, en caso de que no se cumplieran los supuestos se realizó una prueba de Kruskal-Wallis, para saber si existe diferencias significativas entre los grupos evaluados para la ketamina. Cuando las diferencias encontradas fueron significativas se aplicó el método de comparación múltiple

ple de Tukey o Dunnet. Se consideró significativo un valor de $p < 0.05$. Con el objetivo de llevar a cabo el análisis de las variables se utilizaron los programas computacionales StatGraphics 2.0 y SigmaPlot 11. Posteriormente, que se llevó a cabo la administración y evaluación de cada uno de los fármacos, se sacrificaron las ratas mediante un método químico de eutanasia (Figura 12).

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

Donde n = número de animales = 6

$$\text{U. P. (0\%)} = \frac{0.25}{n} * 100 = 4.16\% \quad \text{U. P. (100\%)} = \frac{n - 0.25}{n} * 100 = 95.83\%$$

6. DIAGRAMA DE FLUJO

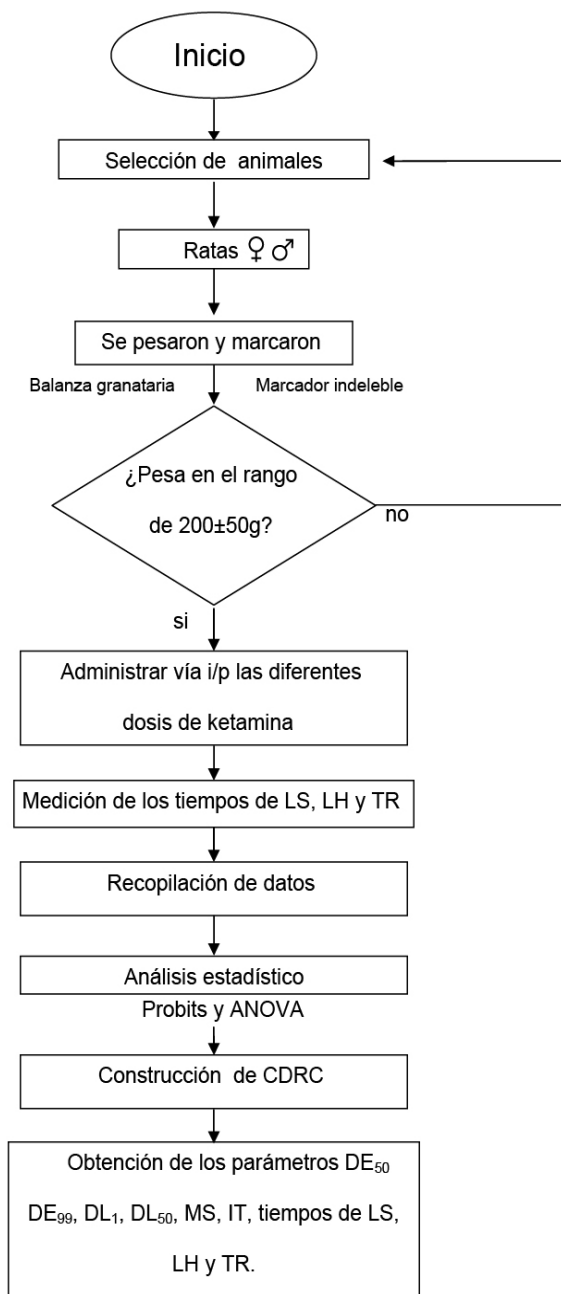


Figura 16. Evaluación del efecto anestésico de ketamina y el efecto analgésico de xilazina en rata de laboratorio cepa Wistar vía Intraperitoneal

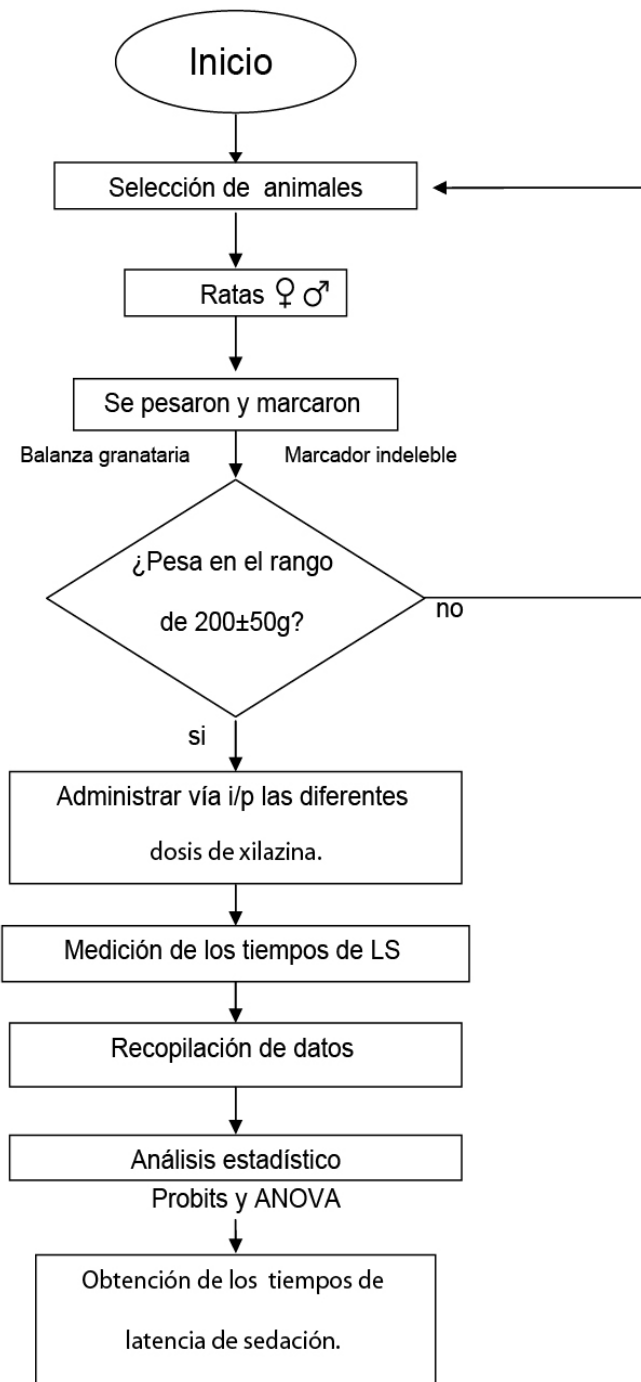


Figura 17. Evaluación del efecto sedante de la xilazina en el efecto anestésico de la en rata de laboratorio cepa Wistar vía Intraperitoneal del en rata de laboratorio cepa Wistar

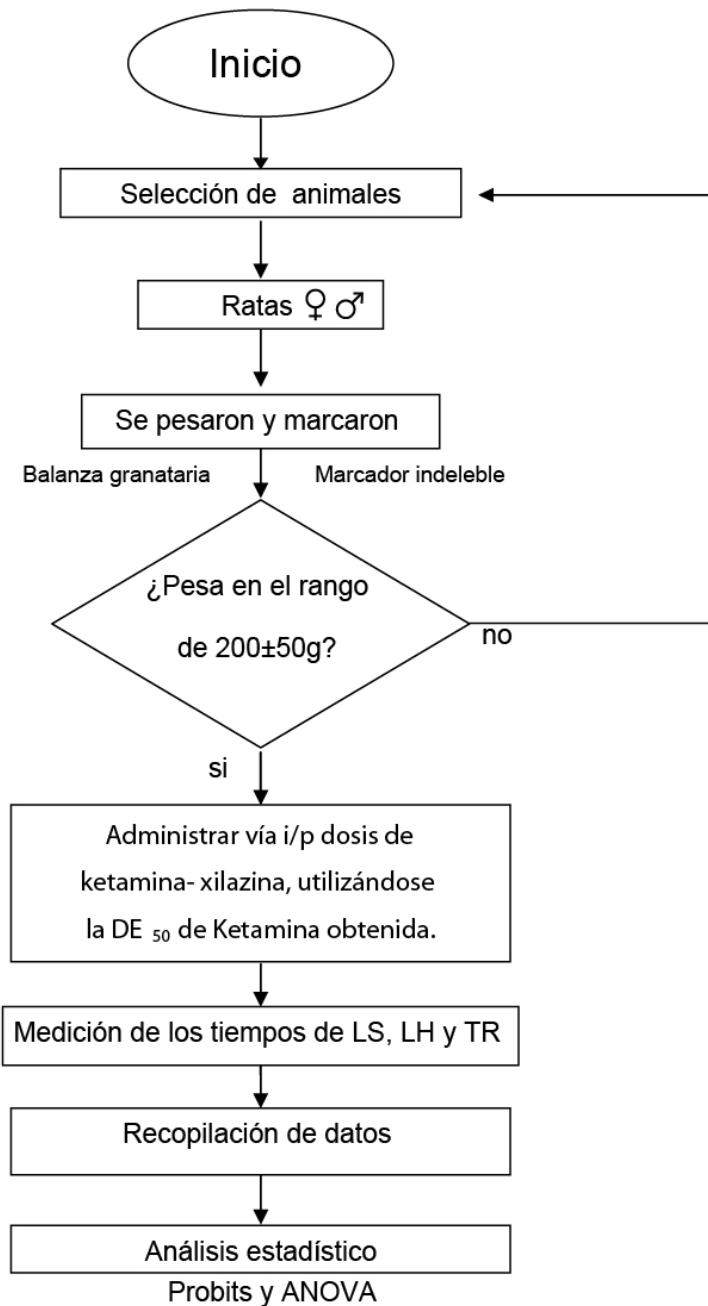


Figura 18. Evaluación de la inducción de la xilazina en el efecto anestésico de la ketamina en rata de laboratorio cepa Wistar vía Intraperitoneal del en rata de laboratorio cepa Wistar vía Intraperitoneal.

7. RESULTADOS

A continuación se muestran los datos obtenidos en porcentaje de respuesta y unidades probit para cada una de las dosis de ketamina administrada vía intraperitoneal en rata macho cepa Wistar (Cuadro 9). Se realizó la corrección para el 100% y 0%, obteniéndose los valores de 95.83% y 4.16% respectivamente, posteriormente se realizó la transformación a unidades probit, utilizándose el cuadro de conversión de porcentajes a unidades de probabilidades (Cuadro 18, Anexo 3)

Cuadro 9. Resultados de la administración de ketamina en rata macho vía i/p. Donde: R= Respuesta; S= Sedación; H= Hipnosis; M= Muerte; U.P.=Unidades probit o de probabilidad; U.P.S.=Unidades de probabilidad de Sedación; U.P.H.=Unidades de probabilidad de Hipnosis; U.P.M.= Unidades de probabilidad de Muerte.

Dosis (mg/Kg)	Log (dosis)	%R			U.P.		
		S	H	M	U.P.S.	U.P.H.	U.P.M
15	1.176	95.83	4.16	4.16	6.728	3.249	3.249
30	1.477	95.83	4.16	4.16	6.728	3.249	3.249
50	1.699	95.83	4.16	4.16	6.728	3.249	3.249
90	1.954	95.83	4.16	4.16	6.728	3.249	3.249
110	2.041	95.83	33.33	4.16	6.728	4.55	3.249
160	2.204	95.83	50.00	4.16	6.728	5	3.249
200	2.301	95.83	66.67	4.16	6.728	5.413	3.249
260	2.415	95.83	95.83	33.33	6.728	6.728	4.55
350	2.544	95.83	95.83	83.33	6.728	6.728	5.966
450	2.653	95.83	95.83	95.83	6.728	6.728	6.728

A partir de los datos obtenidos se construyó la Curva Dosis – Respuesta Cuant. U. P. vs Log (dosis) de ketamina. Se obtuvieron los siguientes valores mediante la interpolación de la gráfica (Figura 19). $DE_{50}=159\text{mg/kg}$, $DL_{50}=286.64$, $DL_1=204.3\text{mg/kg}$ $DE_{99}=255.33\text{mg/kg}$, $IT= 1.79$, $MS=0.8$

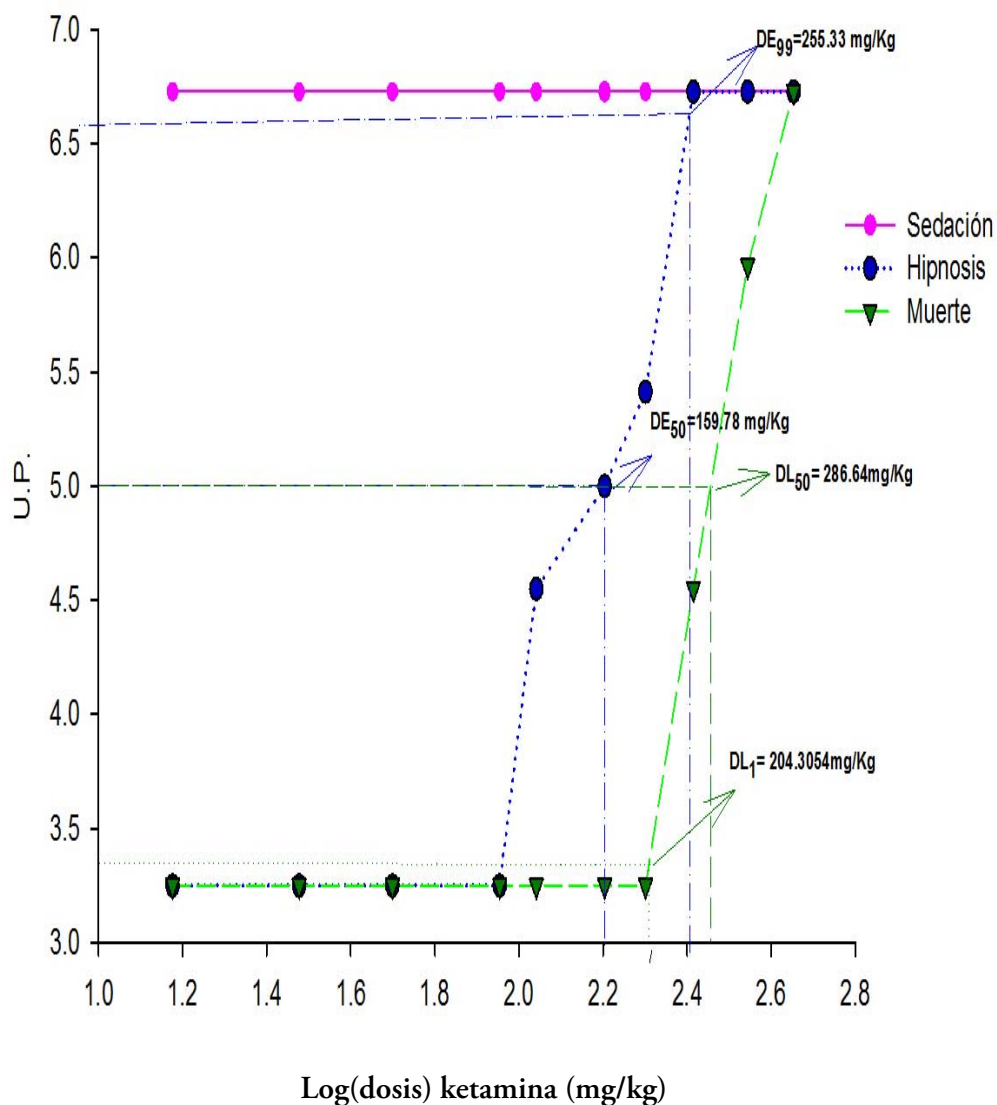


Figura 19. Curva-Dosis Respuesta Cuant. U.P. vs Log(dosis) de ketamina administrado vía i/p en rata macho cepa Wistar.

En la figura 20 y 21, se muestra la construcción de las rectas del efecto hipnosis y muerte respectivamente mediante un método de regresión lineal, a partir de los datos obtenidos (ver Cuadro 10) de la administración de la ketamina vía intraperitoneal en ratas macho. Se obtuvieron los siguientes valores para cada uno de los respectivos parámetros $DE_{50}=152.70\text{mg/kg}$, $DE_{99}=426.57\text{mg/kg}$, $DL_1=199.75\text{mg/kg}$, $DL_{50}=290.85\text{mg/kg}$, $IT=1.9$, $MS=0.468$.

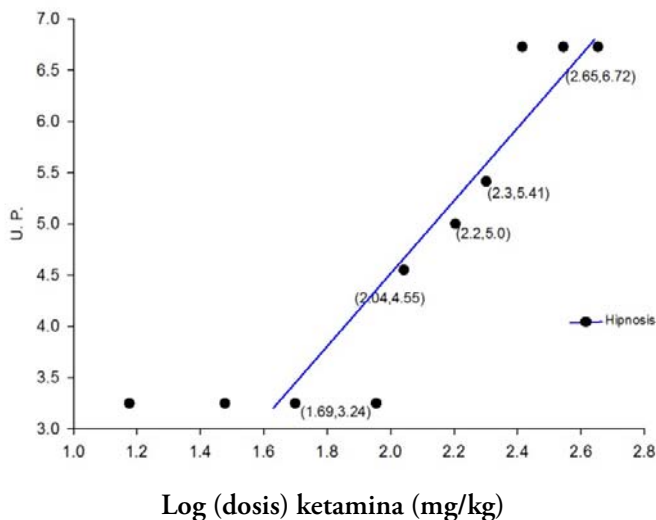


Figura 20. Construcción de una recta del efecto hipnosis a partir de los datos obtenidos (ver Cuadro 10). U.P.H. vs Log (dosis) de ketamina administrado vía i/p en rata macho cepa Wistar. $UP=3.59x-2.84$, $r^2=0.99$.

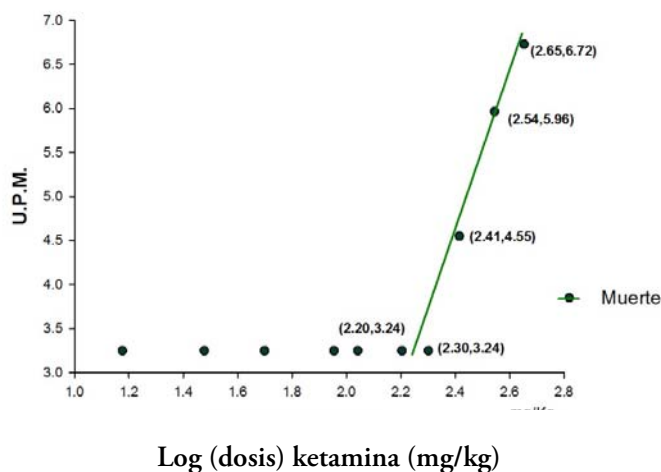


Figura 21. Construcción de una recta del efecto muerte a partir de los datos obtenidos (ver Cuadro 10). U.P. vs Log (dosis) de ketamina administrado vía i/p en rata macho cepa Wistar. $UP=10.05x-19.76$, $r^2=0.98$.

En lo que respecta al tiempo promedio de latencias de sedación, hipnosis y tiempo de recuperación a las diferentes dosis de ketamina administradas vía intraperitoneal en ratas macho cepa Wistar (Cuadro 10), se observa que en las dosis de 15 a 450 mg/kg se presentó sedación, disminuyendo los tiempos de latencia a medida que se incrementa la dosis. Por otra parte, la dosis a partir de la cual se presentó hipnosis fue 110mg/kg, observándose una disminución de tiempos de latencia de hipnosis a medida que incrementaban las dosis, excepto en la dosis de 160mg/kg. Con respecto al tiempo de recuperación se incrementan a medida que las dosis aumentan, sin embargo, en la dosis de 260mg/kg el tiempo de recuperación fue menor al cuantificado en 200mg/Kg, a la dosis de 450mg/kg no se logró cuantificar el tiempo de recuperación debido a que se presentó el efecto muerte.

Cuadro 10. Promedio de las latencias de sedación, hipnosis y tiempo de recuperación expresadas en minutos

Dosis (mg/Kg)	Promedio de latencia de sedación(min)	Promedio de Latencia de hipnosis (min)	Promedio de tiempo de recuperación(min)
15	1.89	-	-
30	2.44	-	-
50	2.16	-	-
90	1.29	-	-
110	1.10	2.99	7.81
160	0.97	5.36	29.44
200	0.73	3.25	120.99
260	0.064	3.15	77.00
350	0.79	1.75	205.00
450	0.42	0.84	=

(-) No presentó hipnosis

(=) Presentaron muerte

A partir de los resultados obtenidos se construyó una gráfica de barras que muestra los tiempos promedio ($\bar{x} \pm \sigma$) de latencia de sedación e hipnosis (Figura 22). Se encontró que existen diferencias significativas entre las dosis de 15,30,50,90mg/kg vs 260mg/kg para los tiempos de latencia de sedación, mediante una prueba de Tukey, con respecto a los tiempos de latencia de hipnosis se encontró que existen diferencias significativas entre las dosis de 110, 200, 260, 350 y 450mg/Kg vs 160mg/Kg mediante una prueba de Dunnet.

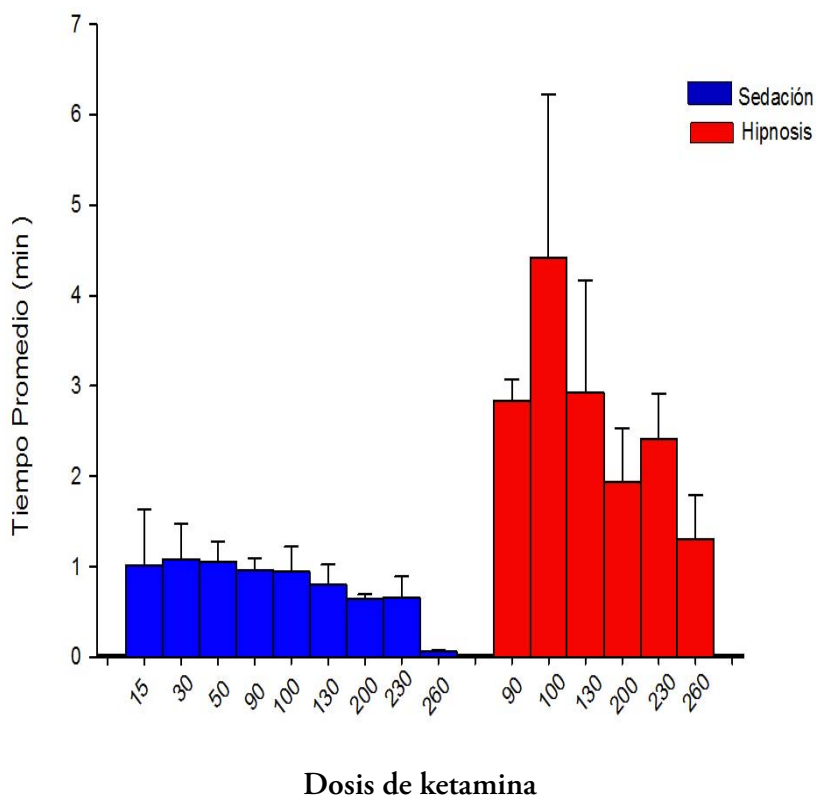


Figura 22. Latencia de sedación e hipnosis vs dosis de ketamina, cada barra representa el promedio de latencia (min) $\pm \sigma$ $p < 0.05$.

Con respecto a los tiempos de recuperación se construyó una gráfica de barras que muestra los tiempos de recuperación promedio ($\bar{x} \pm \sigma$) (Figura 23). Se encontró que no existen diferencias significativas entre las dosis de ketamina administradas mediante una prueba de Kruskal-Wallis.

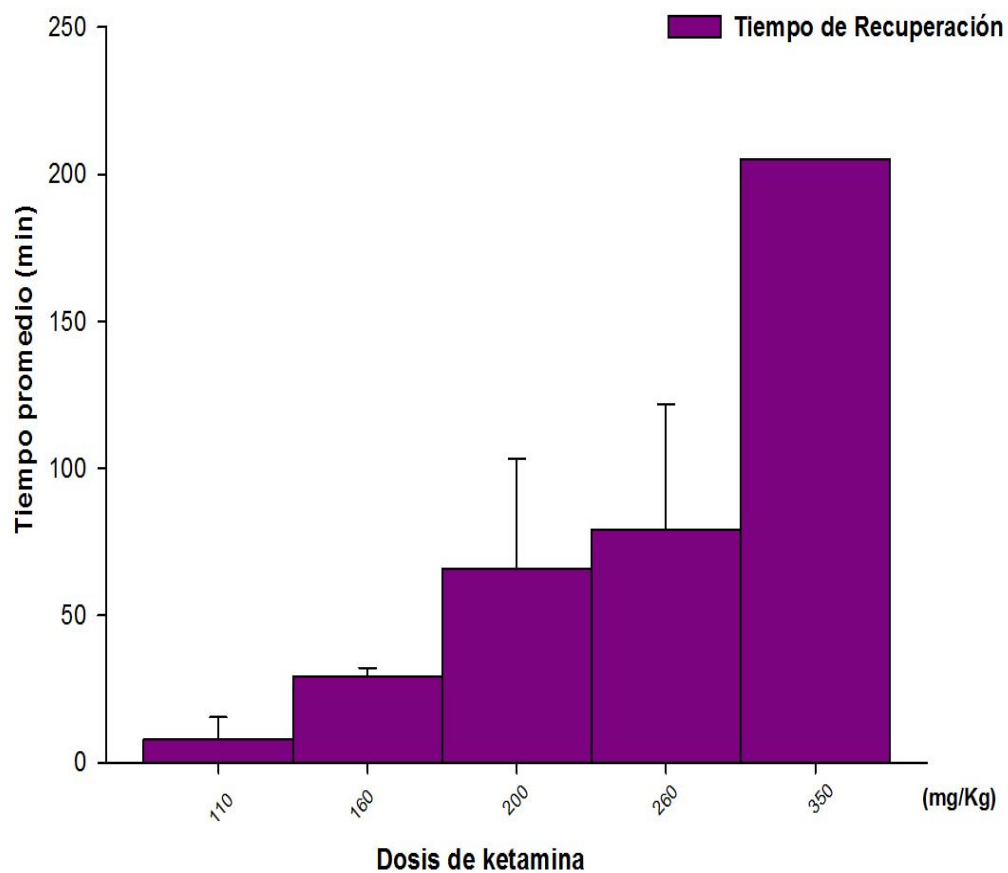


Figura 23. Tiempo de recuperación vs dosis de ketamina, cada barra representa el promedio del tiempo de recuperación (min) $\pm \sigma$ $p < 0.05$.

Se obtuvieron los siguientes tiempos promedios de latencia de sedación (Cuadro 11) de la administración de diferentes dosis de xilazina en vía intraperitoneal en ratas macho cepa Wistar.

Cuadro 11. Promedio de las latencias de sedación expresadas en minutos

Dosis (mg/Kg)	Promedio de Latencia de sedación(min)
1	2.28
3	2.24
5	1.84
7	1.40

A partir de los resultados obtenidos se construyó una gráfica de barras que muestra los tiempos promedio ($\bar{x} \pm \sigma$) de latencia de sedación (Figura 24). Se realizó la comparación de los tiempos con respecto a las dosis de xilazina administrada, no se encontraron diferencias significativas entre las diferentes dosis mediante una prueba de ANOVA.

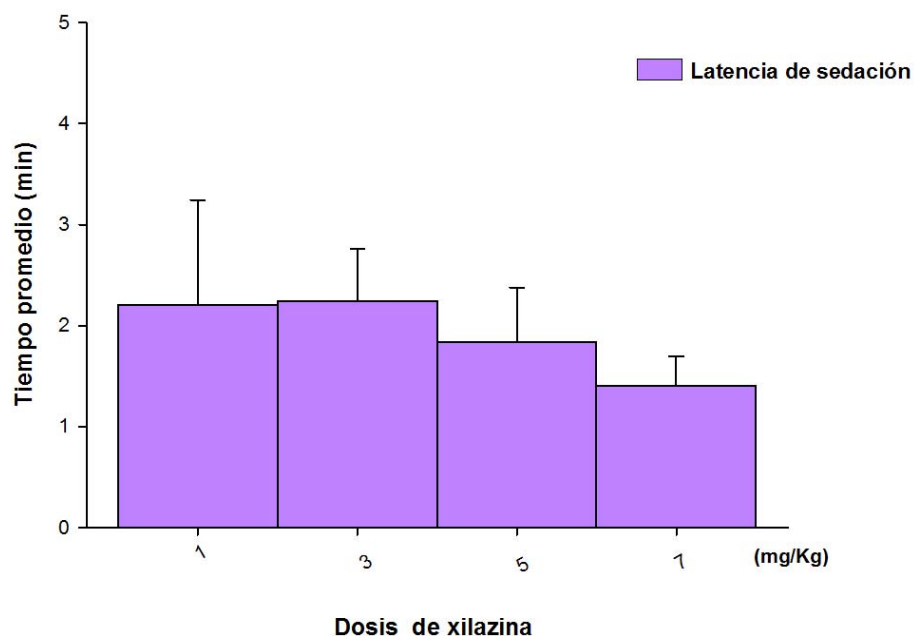


Figura 24. Latencia de Sedación de la administración de xilazina vía intraperitoneal en rata macho, cada barra representa el promedio de latencia (min) $\pm \sigma$ $p < 0.05$.

Con respecto a la administración de la combinación de ketamina y xilazina (1mg/kg) en ratas macho vía intraperitoneal. Al observarse que a la dosis efectiva de ketamina se presentaba el efecto muerte, se requirió probar diferentes dosis de ésta con una dosis de xilazina de 1mg/kg. Se muestran los datos obtenidos del porcentaje de respuesta y unidades probit para las diferentes dosis administradas en ratas macho (Cuadro 12).

Cuadro 12. Resultados de la administración de diferentes dosis de ketamina + xilazina (1mg/Kg) en rata macho vía i/p. Donde: R= Respuesta; S= Sedación; 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	Log (dosis)	%R		U.P.	
		H	M	U.P.H.	U.P.M.
15	1.1761	4.16	4.16	3.249	3.249
30	1.4771	4.16	4.16	3.249	3.249
60	1.7781	66.67	4.16	5.410	3.249
75	1.8750	83.33	4.16	5.950	3.249
90	1.9542	95.33	33.33	6.728	4.560
158	2.1986	95.33	83.33	6.728	5.960

A partir de los datos obtenidos se construyó la Curva Dosis – Respuesta Cuantal. U. P. vs Log(dosis) de ketamina + xilazina (1mg/kg) (Figura 25). Se obtuvieron los siguientes valores mediante la interpolación de la gráfica $DE_{50}=49.52\text{mg/kg}$, $DE_{99}=87.49\text{mg/kg}$, $DL_1=75.30\text{mg/kg}$, $DL_{50}= 108.81\text{mg/kg}$, $IT=2.19$, $MS=0.86$

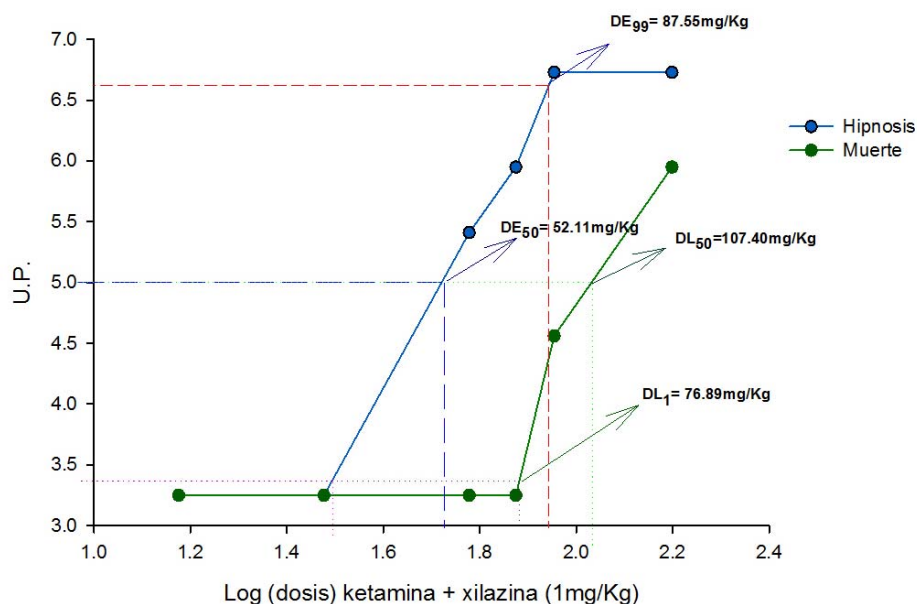


Figura 25. Curva-Dosis Respuesta Cuantal. U.P. vs Log (dosis) de ketamina + xilazina (1mg/kg) administrado vía i/p en rata macho.

En la figura 26, se muestra la construcción de las rectas del efecto hipnosis y muerte a partir de los datos obtenidos (Cuadro 11) de la administración de la combinación de diferentes dosis de ketamina y xilazina (1mg/kg) vía intraperitoneal en ratas macho cepa Wistar. Se obtuvieron los siguientes valores mediante un método de regresión lineal $DE_{50}=52.39\text{mg/kg}$, $DE_{99}=88.67\text{mg/kg}$, $DL_1=60.15\text{mg/kg}$, $DL_{50}=108.36\text{mg/kg}$, $IT=2.06$, $MS=0.68$

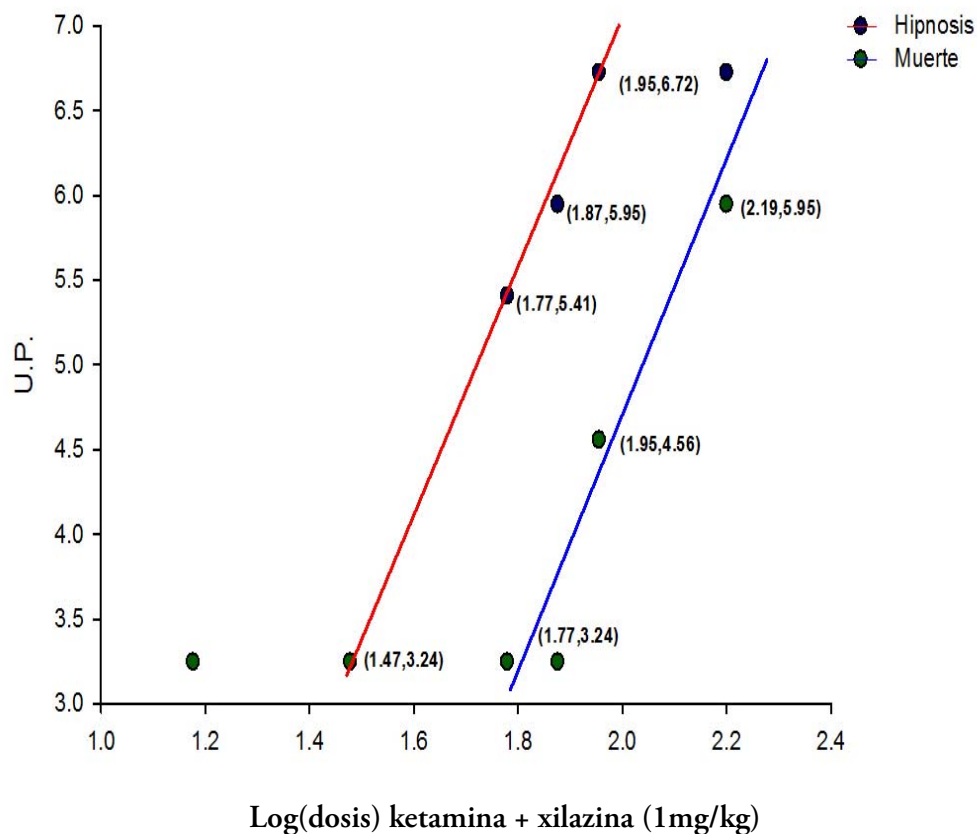


Figura 26. Construcción de una recta del efecto hipnosis y muerte a partir de los datos obtenidos (ver Cuadro 11). U.P. vs Log (dosis) de ketamina + xilazina (1mg/kg) administrado vía i/p en rata macho cepa Wistar. Obteniendo la siguiente la recta que describe el efecto hipnosis $UP= 7.09-7.19$ $r^2= 0.99$. La recta que describe al efecto muerte es $UP= 6.42x-8.057$ $r^2= 0.99$.

En lo que respecta al tiempo promedio de latencias de sedación, hipnosis y tiempo de recuperación a las diferentes dosis de ketamina con una dosis de xilazina de 1mg/kg administradas vía intraperitoneal en ratas machos cepa Wistar (Figura 27). No se encontró que existen diferencias significativas mediante el análisis de varianza mediante una Prueba de Kruskal-Wallis para los tiempos de latencia de sedación y latencia de hipnosis.

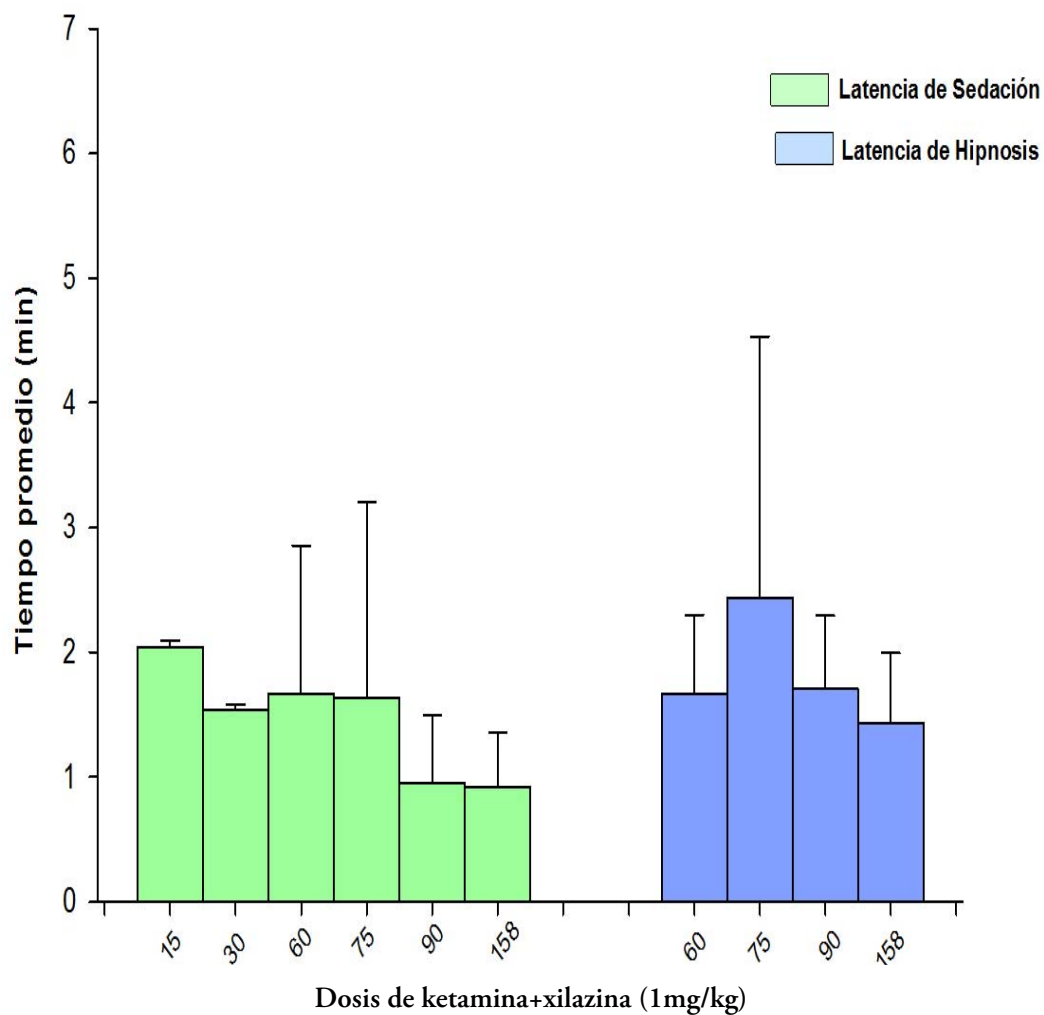


Figura 27. Latencia de sedación e hipnosis vs diferentes dosis de ketamina + xilazina (1mg/kg), cada barra representa el promedio de latencia (min) $\pm\sigma$. $p<0.05$.

Con respecto a los resultados obtenidos en porcentaje de respuesta y unidades probit en ratas hembras cepa Wistar para cada una de las dosis de ketamina administrada vía intraperitoneal (Cuadro 13). Se realizó la corrección para el 100% y 0%, obteniéndose los valores de 95.83% y 4.16% respectivamente, posteriormente se realizó la transformación a unidades probit, utilizándose el cuadro de conversión de porcentajes a unidades de probabilidades (Cuadro, Anexo 3).

Cuadro 13. Resultados de la administración de ketamina en rata hembra vía i/p. Donde: R= Respuesta; S= Sedación; H= Hipnosis; M=Muerte; U.P.=Unidades Probit o de probabilidad; U.P.S.=Unidades de probabilidad de Sedación; U.P.H.=Unidades de probabilidad de Hipnosis; U.P.M.=Unidades de probabilidad de Muerte.

Dosis (mg/Kg)	Log (dosis)	%R			UP		
		S	H	M	U.P.S.	U.P.H	U.P.M
15	1.176	95.83	4.16	4.16	6.728	3.249	3.249
30	1.477	95.83	4.16	4.16	6.728	3.249	3.249
50	1.698	95.83	4.16	4.16	6.728	3.249	3.249
90	1.954	95.83	50	4.16	6.728	5	3.249
100	2	95.83	66.67	4.16	6.728	5.413	3.249
130	2.114	95.83	95.83	4.16	6.728	6.728	3.249
200	2.301	95.83	95.83	16.67	6.728	6.728	4.006
230	2.361	95.83	95.83	33.33	6.728	6.728	4.55
260	2.415	95.83	95.83	95.83	6.728	6.728	6.728

A partir de los datos obtenidos se construyó la Curva Dosis–Respuesta Cuantal. U. P. vs Log (dosis) de ketamina. Se obtuvieron los siguientes valores mediante la interpolación de la gráfica (Figura 28). $DE_{50}=90.07\text{mg/kg}$, $DL_1=138.32\text{mg/kg}$, $DL_{99}=127.96\text{mg/kg}$, $DE_{99}=127.96\text{mg/kg}$, $DL_{50}=235.01\text{mg/kg}$, $IT= 2.609$, $MS=1.08$.

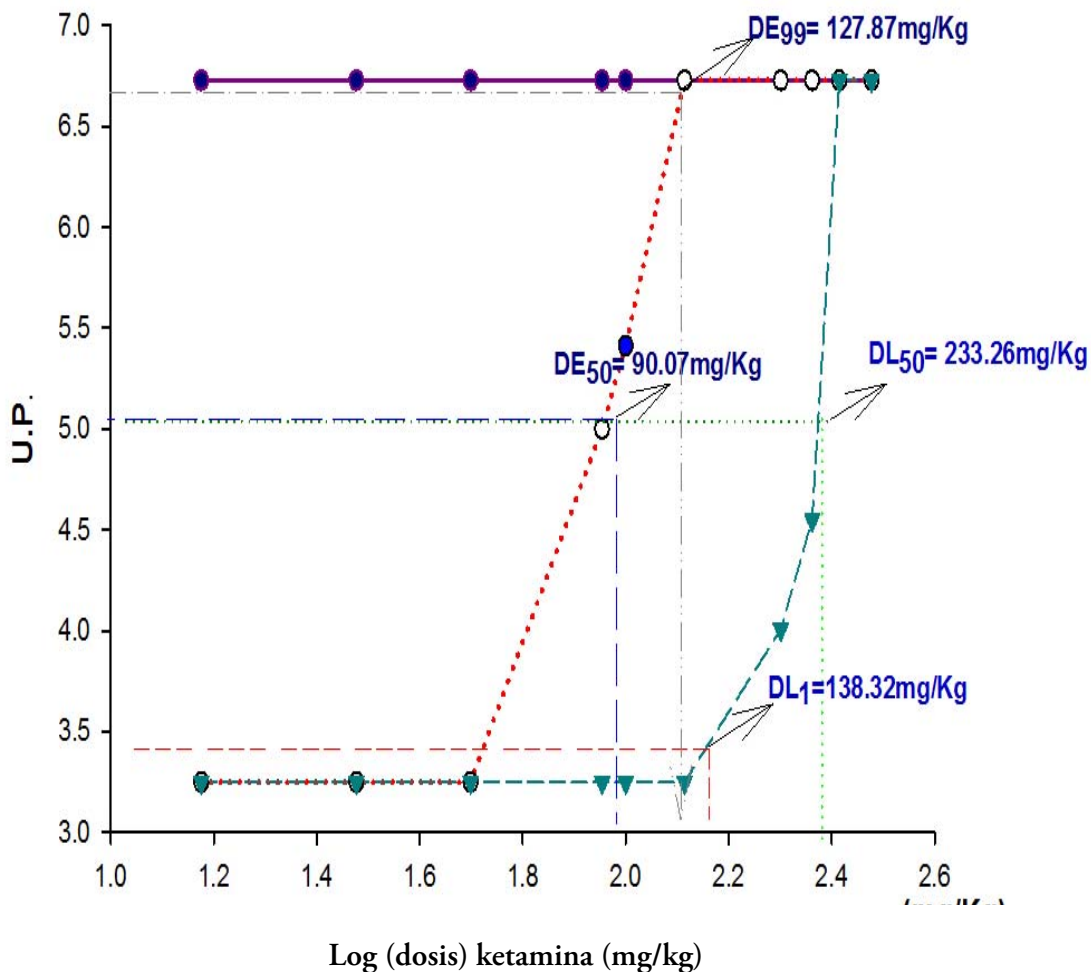


Figura 28. Curva-Dosis Respuesta Cuantal. U.P. vs Log(dosis) de ketamina administrado vía i/p en rata hembra.

En la figura 29 y 30, se muestra la construcción de las rectas del efecto hipnosis y muerte respectivamente mediante un método de regresión lineal, a partir de los datos obtenidos (Cuadro 15) de la administración de la ketamina vía intraperitoneal en ratas hembra cepa Wistar. Se obtuvieron los siguientes valores para cada uno de los respectivos parámetros $DE_{50}=85.38\text{mg/kg}$, $DE_{99}=228.47\text{mg/kg}$, $DL_1= 187.47\text{mg/kg}$, $DL_{50}= 235.85\text{mg/kg}$, $IT= 2.76$, $MS= 0.83$.

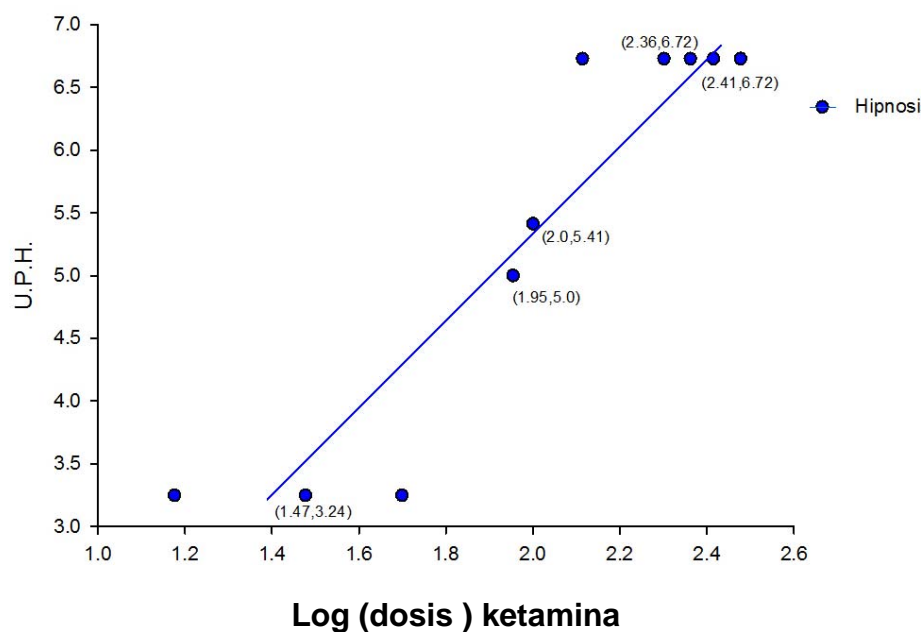


Figura 2.9. Construcción de una recta del efecto hipnosis a partir de los datos obtenidos (Cuadro 12). U.P.H. vs Log (dosis) de ketamina administrado vía i/p en rata hembra. Obteniendo la siguiente la recta que describe el efecto hipnosis $UP= 3.79x-2.32$, $r^2= 0.99$.

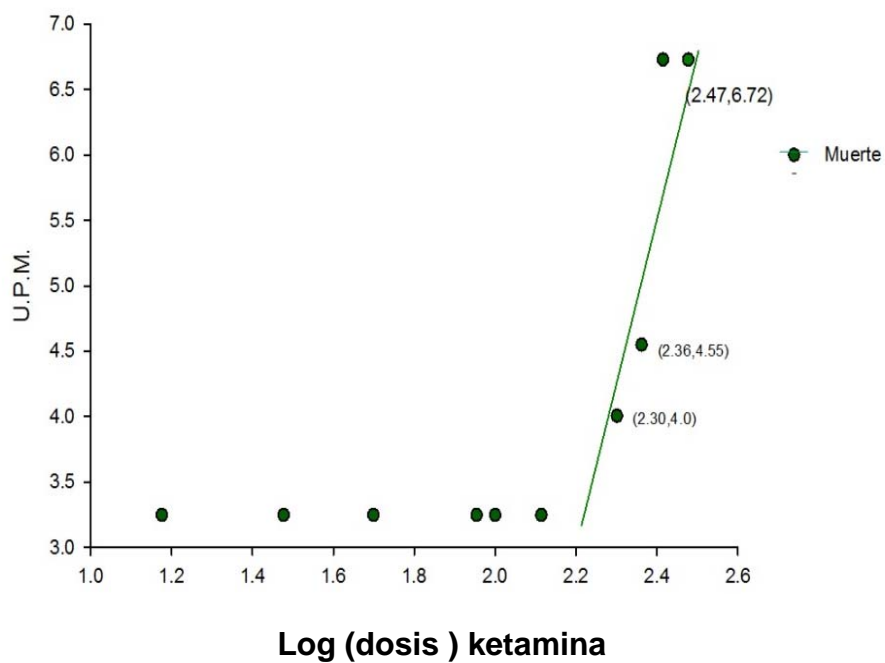


Figura 30. Construcción de una recta del efecto hipnosis a partir de los datos obtenidos (Cuadro 13). U.P.H. vs Log (dosis) de ketamina administrado vía i/p en rata hembra. Ecuación general: $3.79x-2.32$ $r^2=0.99$.

En lo que respecta al tiempo promedio de latencias de sedación, hipnosis y tiempo de recuperación a las diferentes dosis de ketamina administradas vía intraperitoneal en ratas hembras cepa Wistar (Cuadro 14), se observa que las dosis de 15 a 260 mg/kg se presentaron latencias de sedación, disminuyendo los tiempos de latencia a medida que se incrementa la dosis. Por otra parte, la dosis a partir de la cual se presentó latencia de hipnosis fue 90mg/kg, observándose una disminución de tiempos a medida que incrementaban las dosis, excepto en la dosis de 230mg/kg. Con respecto al tiempo de recuperación se incrementan a medida que las dosis aumentan, sin embargo, en la dosis de 260mg/kg su tiempo de recuperación no se logró cuantificar debido a que se presentó el efecto muerte.

Cuadro 14. Promedio de las latencias de sedación, hipnosis y tiempo de recuperación expresadas en minutos.

Dosis (mg/Kg)	Promedio de latencia de sedación(min)	Promedio de Latencia de hipnosis (min)	Promedio de tiempo de recuperación(min)
15	1.01	-	-
30	1.09	-	-
50	1.05	-	-
90	0.96	3.99	18.38
100	0.80	2.93	33.93
130	0.95	4.41	60.46
200	0.64	1.94	144.33
230	0.66	2.41	148.30
260	0.061	1.30	=

(-) No presento hipnosis

(=) Presentaron muerte

A partir de los resultados obtenidos se construyó una gráfica de barras que muestra los tiempos promedio ($\bar{x} \pm \sigma$) de latencia de sedación e hipnosis (ver Figura 31). Se encontró que existen diferencias significativas entre las dosis de 30,50,90 y 100mg/kg vs 260mg/kg para los tiempos de latencia de sedación, mediante una prueba de Tukey.

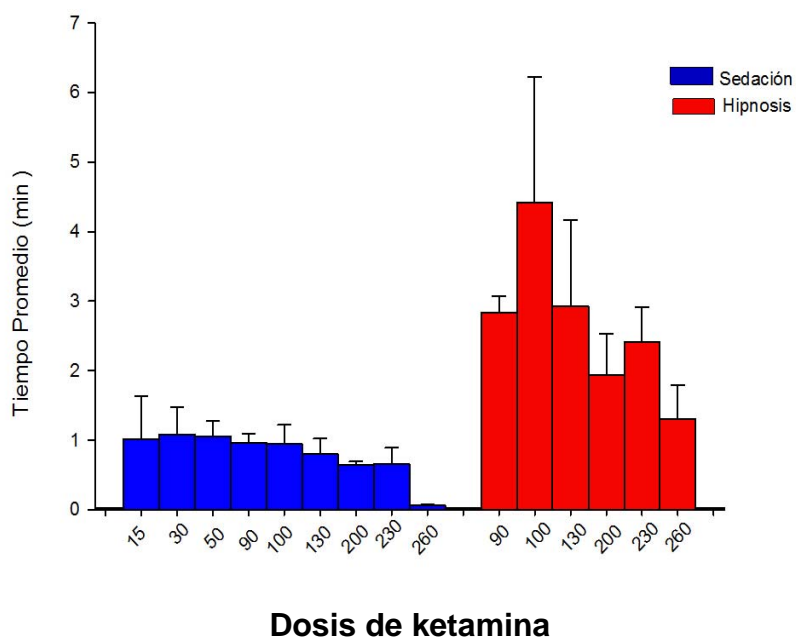


Figura 31. Latencia de sedación e hipnosis vs dosis de ketamina, cada barra representa el promedio de latencia (min) $\pm \sigma$.

Con respecto a los tiempos de recuperación se construyó una gráfica de barras que muestra los tiempos promedio ($x \pm \square$) (Figura 32). Se encontró que existen diferencias significativas para las dosis de 200 y 230mg/kg vs 90mg/kg mediante una Prueba de Tukey.

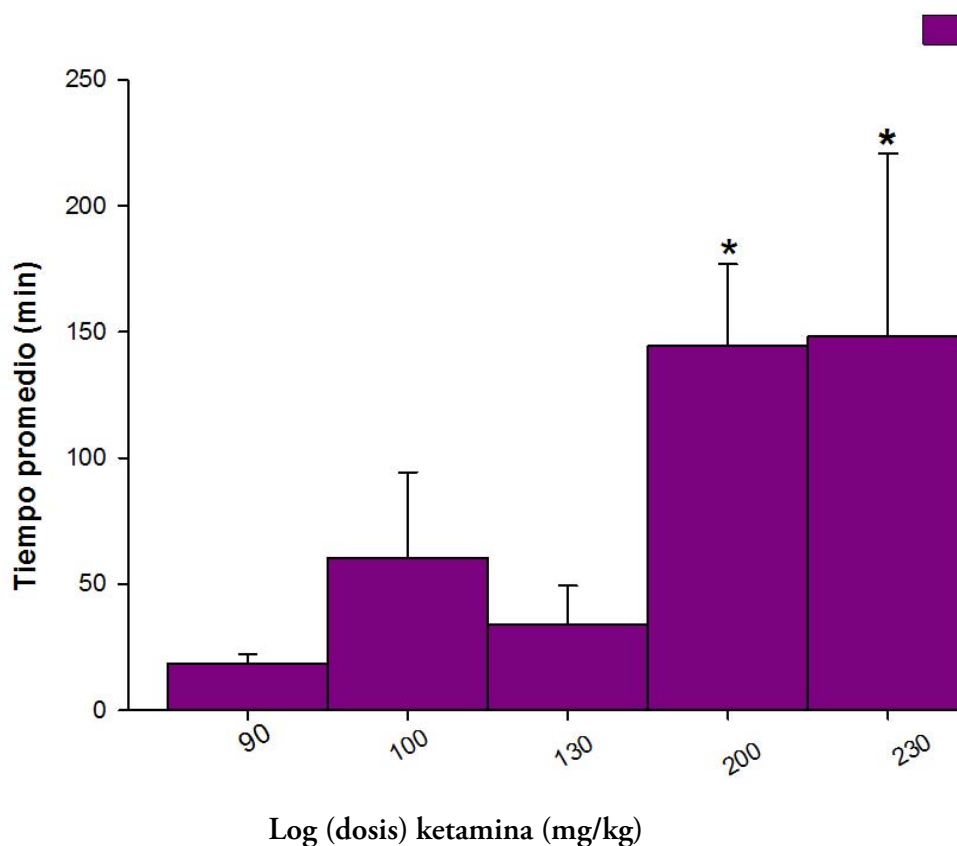


Figura 32. Tiempo de recuperación vs dosis de ketamina, cada barra representa el promedio del tiempo de recuperación (min) $\pm \square$.

Con respecto a la administración en ratas hembra cepa Wistar de diferentes dosis de xilazina en vía intraperitoneal para evaluar el efecto de sedación, se obtuvieron los siguientes promedios de latencia de sedación (Cuadro 15).

Cuadro 15. Promedio de las latencias de sedación expresadas en minutos.

Dosis (mg/Kg)	Promedio de latencia de sedación (min)
1	1.95
3	1.78
5	1.65
7	1.60

A partir de los resultados obtenidos se construyó una gráfica de barras que muestra los tiempos promedio ($\bar{x} \pm \sigma$) de latencia de sedación (ver Figura 33). Se realizó la comparación de los tiempos con respecto a las dosis de xilazina administrada, no se encontraron diferencias significativas entre las diferentes dosis mediante una prueba de Kruskal-Wallis.

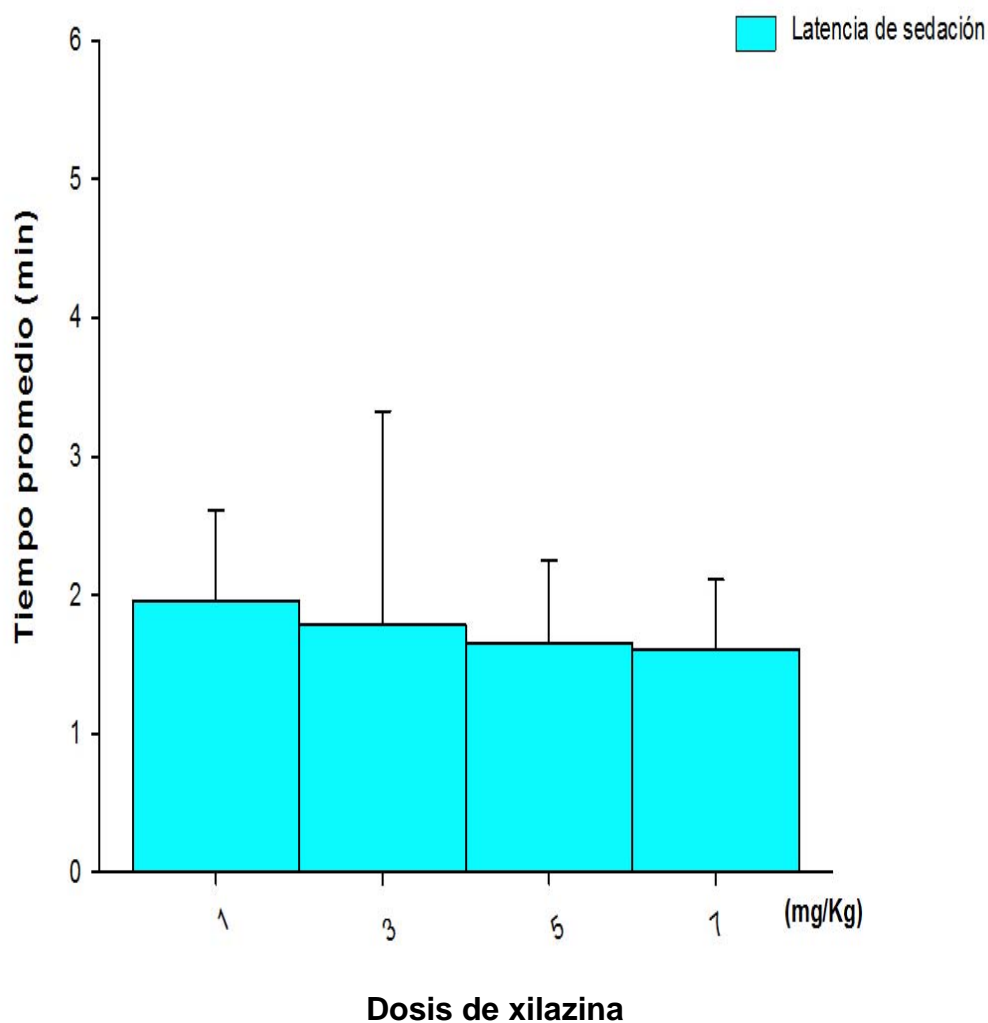


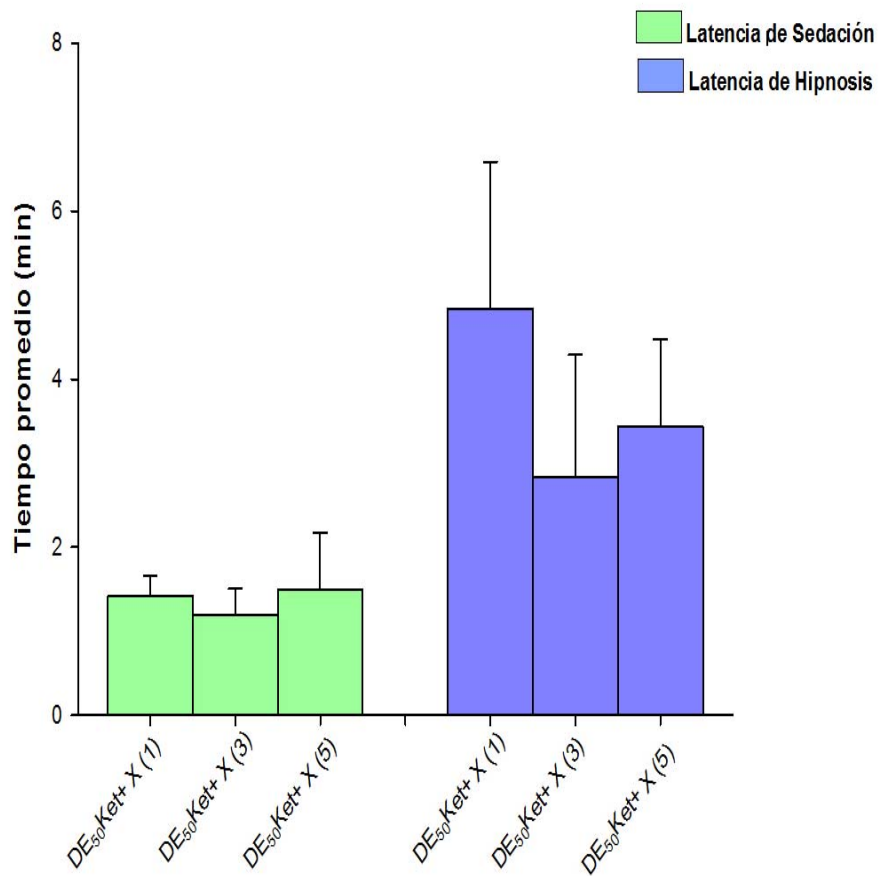
Figura 33. Latencia de sedación, cada barra representa el promedio de latencia (min) $\pm \sigma$.

A partir de la determinación de la DE₅₀ para la ketamina y la evaluación de los tiempos de latencia de sedación a diferentes dosis de xilazina en rata hembra vía intraperitoneal, se prosigió a la administración conjunta de ketamina y xilazina. El cuadro 16 muestra los resultados de los tiempos promedio de latencias de sedación, hipnosis y tiempo de recuperación obtenidos.

Cuadro 16. Promedio de las latencias de sedación, hipnosis y tiempo de recuperación expresadas en minutos.

DE ₅₀ (85mg/kg) ketamina+ xilazina (mg/kg)	Promedio de latencia de sedación (min)	Promedio de latencia de hipnosis (min)	Promedio de tiempo de recuperación (min)
1	1.42	4.84	41.90
3	1.18	2.84	115.55
5	1.50	3.43	115.29

A partir de los resultados obtenidos se construyó una gráfica de barras que muestra los tiempos promedio ($\bar{x} \pm \sigma$) de latencia de sedación e hipnosis (Figura 34). Se encontró que no existen diferencias significativas entre las dosis administradas para los tiempos de latencia de sedación e hipnosis, mediante una prueba de ANOVA.



DE50 de ketamina + xilazina (1,3,5mg/kg)

Figura 34. Latencia de sedación e hipnosis vs DE₅₀ de ketamina + xilazina, cada barra representa el promedio de latencia (min) ± □.

En la figura 35 se muestra la gráfica de barras de los tiempos promedio de recuperación ($x \pm \square$) Se encontró que existen diferencias significativas para las dosis de 5mg/kg vs 1mg/kg, mediante una prueba de tukey.

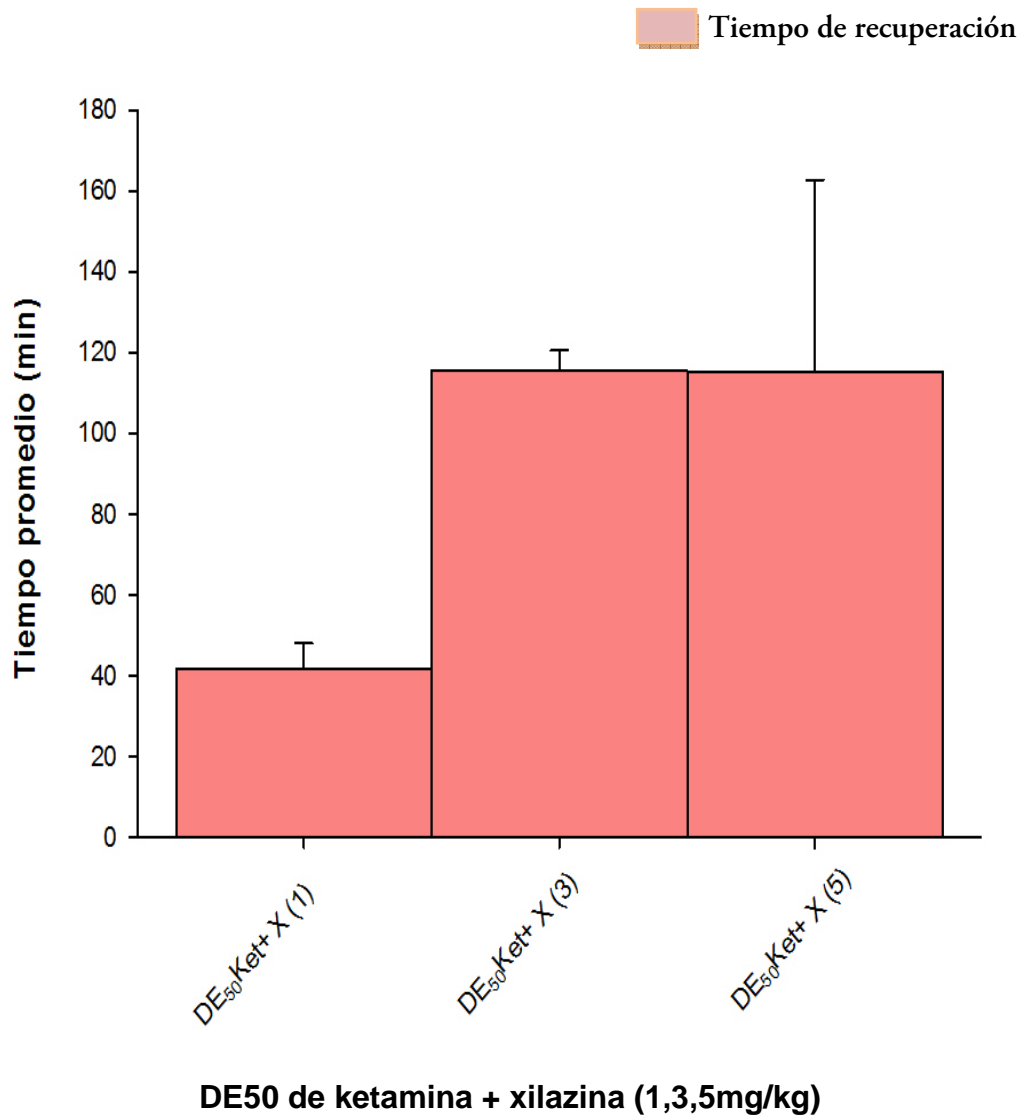


Figura 35. Tiempo de recuperación vs dosis de Ketamina, cada barra representa el promedio del tiempo de recuperación (min) $\pm \square$.

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

De acuerdo a las dosis evaluadas, el valor de la dosis efectiva de ketamina obtenida para ratas machos fue casi el doble ($DE_{50}=152.70\text{mg/kg}$) con respecto a los observados en las hembras ($DE_{50}=85.38\text{mg/kg}$), esta diferencia puede deberse a que las hembras presentan en general menor masa corporal, mayor cantidad de tejido adiposo y diferencias con respecto al metabolismo, acorde a las referencias consultadas estas diferencias en el metabolismo resultan de la expresión de enzimas hepáticas, como el citocromo P450(CYP), la cual es una de los principales enzimas implicadas en la degradación de los fármacos.^{18,19}

Con respecto al margen de seguridad para la ketamina, se obtuvieron valores de $MS=0.83$ para hembras y $MS=0.47$ para machos, lo cual muestra que existe el riesgo de que se presente el efecto de muerte en dosis altas que aún presentan el efecto terapéutico, destacando que los anestésicos generales se caracterizan por tener estrechos márgenes de seguridad, por lo cual se pueden presentar efectos no deseados, debido a que el margen de seguridad es un parámetro farmacológico que permite evaluar sustancias con alto grado de toxicidad, este compara el comportamiento de las curvas de toxicidad y del efecto benéfico.³³

En cuanto a los valores obtenidos de índice terapéutico $IT=1.9$ y $IT= 2.76$ para machos y hembras respectivamente, permiten observar menor riesgo en el uso de ketamina en ratas hembra debido a que un valor mayor para este parámetro indica que el efecto letal y benéfico están más separados entre sí. En relación a el valor obtenido para ratas macho al ser inferior a dos, se encuentra muy cercano a los valores límites señalados para ser considerado como medicamentos con índice terapéutico estrecho de acuerdo a la FDA que señala que los medicamentos con índices terapéuticos con valores inferiores a 2 son de uso inseguro..³³

Por otra parte, al evaluar el efecto de sedación provocado por las diferentes dosis de xilazina (1, 3, 5 y 7mg/kg) administrada vía intraperitoneal en ratas hembras y machos, se observó que los tiempos de latencia de sedación disminuían al incrementarse la dosis, lo cual indica que se disminuye el tiempo de inducción de sedación, sin embargo la variación que se presentó en los tiempos en las diferentes dosis en hembras y machos fue pequeña (Cuadro 12 y 16), por lo cual no se encontraron diferencias mediante los métodos estadísticos empleados (análisis de varianza). Debido a que la xilazina es un agonista \square_2 adrenérgico, actúa como un relajante muscular, sedante y analgésico, por lo cual las dosis empleadas evaluaron los tiempos de sedación, para administrarse posteriormente en combinación con la ketamina.¹

Con base a la literatura consultada se decidió utilizar la combinación ketamina + xilazina, esta combinación contrarresta los efectos desfavorables de la ketamina, porque al ser un anestésico disociativo produce un aumento del tono del músculo esquelético y un grado de analgesia variable, por otra parte la xilazina al ser un sedante y analgésico que actúa como un depresor del SNC e induce la relajación muscular, por lo cual los efectos de ambos proporcionan relajación muscular y un grado de analgesia superior al obtenido por la ketamina sola. Se seleccionaron las dosis más bajas de xilazina para utilizarlas en combinación con la DE_{50} de ketamina,

debido a que de acuerdo a las referencias la xilazina posee una potente acción depresora sobre el aparato cardiovascular, existiendo riesgos de que se presente bradicardia o hipotensión.⁴²⁻⁴⁴

Cuando se administró la combinación de la DE₅₀ de ketamina (152.70mg/kg) + xilazina (1mg/kg), en machos se presentó el efecto de muerte, esto se puede deber a que la combinación de ketamina + xilazina induce una depresión cardiovascular de grado variable, con descensos significativos de la frecuencia cardiaca, de la presión arterial, de la frecuencia respiratoria y de la presión de oxígeno en sangre arterial, esta depresión puede llegar a ser tan severa que provoque la muerte, como lo señala Luis M. Torres en el "Tratado de anestesia y reanimación"⁴². Debido a que se observó este efecto no deseado se administraron varias dosis de ketamina (15, 30, 50, 60, 75, 90, 152mg/kg), manteniéndose la dosis de xilazina (1mg/kg), esto permitió posteriormente la construcción de una curva dosis respuesta cuantitativa, a partir de la cual se determinaron los parámetros de DE₅₀, DE₉₉, DL₁, DL₅₀, MS e IT, se observó una disminución de más de tres veces para la DE₅₀ de ketamina (52.39mg/kg) + xilazina (1mg/kg) con respecto a la administración aislada de ketamina. Se presentó un pequeño incremento con respecto al margen de seguridad e índice terapéutico (MS=0.68 e IT=2.06), demostrándose que la combinación disminuye la dosis del anestésico para generar el efecto deseado, existiendo un incremento en el margen entre las dosis que son efectivas y las que son tóxicas, lo cual nos indica un menor riesgo en su uso.^{3, 33, 46}

Con respecto a las ratas hembra cuando se utilizó la combinación de DE₅₀ de ketamina (85.38mg/kg) + xilazina (1, 3, 5mg/kg), se presentó el estado de hipnosis sin presentarse el efecto muerte, esto muestra que la dosis requerida para causar el efecto deseado en el 99% de la población (127.96mg/kg) al utilizar la ketamina aislada disminuyó a la DE₅₀ al combinarla con xilazina. En las hembras no se presentó el efecto de muerte, lo cual puede ser porque los estrógenos poseen un efecto cardioprotector, debido a que estos participan en el metabolismo de las lipoproteínas, inducen la liberación de factores relajantes en las células endoteliales y modifican la reactividad de las células de músculo liso en los vasos sanguíneos como se encontró reportado en la literatura.³⁵

Cuando se realiza la combinación de ketamina + xilazina, se observó que las dosis requeridas para que se presenten estados de hipnosis en un 99% de la población son muy similares entre hembras y machos, sin embargo, los machos presentan más susceptibilidad a que se presente el efecto de muerte por esta combinación.

En lo que respecta al tiempo promedio de latencias de sedación, hipnosis y tiempo de recuperación a las diferentes dosis de ketamina administradas vía intraperitoneal en ratas macho se observó que en las dosis de 15 a 450 mg/kg se presentó sedación, disminuyendo los tiempos de latencia a medida que se incrementa la dosis. Por otra parte, la dosis a partir de la cual se presentó hipnosis fue 110mg/kg, observándose una disminución de tiempos de latencia de hipnosis a medida que incrementaban las dosis, excepto en la dosis de 160mg/kg. Con respecto al tiempo de recuperación se incrementan a medida que las dosis aumentan, en lo que respecta al tiempo promedio de latencias de sedación, hipnosis y tiempo de recuperación a las diferentes dosis de ketamina administradas vía intraperitoneal en ratas hembras cepa, se observa que a las dosis de 15 a 260 mg/kg se presentaron latencias de sedación, disminuyendo los tiempos de latencia a medida que se incrementa la dosis. Por otra parte, la dosis a partir de la cual se pre-

sentó latencia de hipnosis fue 90mg/kg, observándose una disminución de tiempos a medida que incrementaban las dosis, excepto en la dosis de 230mg/kg. Con respecto al tiempo de recuperación se incrementan a medida que las dosis aumentan, sin embargo, en la dosis de 260mg/kg su tiempo de recuperación no se logró cuantificar debido a que se presentó el efecto muerte. Es importante mencionar que la anestesia producida por la ketamina se caracteriza por ser disociativa, generando un estado de inconsciencia con los ojos abiertos y rigidez muscular.⁴⁵

Cuando se llevó a cabo la administración de la combinación de ketamina y xilazina (1mg/kg) en ratas macho vía intraperitoneal, las dosis efectivas de ketamina presentaron el efecto muerte, por lo cual se requirió probar diferentes dosis de ketamina con una dosis de xilazina de 1mg/kg, estos efectos tóxicos se pueden deber a que la ketamina genera una depresión respiratoria grave, un aumento del tono músculo esquelético y un incremento de la presión sanguínea.⁴⁶⁻⁴⁷

9. Conclusiones

Al utilizar a la xilazina en conjunto con la ketamina, se producen estados de hipnosis para la anestesia quirúrgica a menores dosis y con un mayor margen de seguridad. En el caso de los machos se requirió una tercera parte de las dosis de ketamina al combinarla con la xilazina, por otra parte en las hembras las dosis de ketamina requeridas se disminuyó a la mitad.

ANEXOS

Anexo 1. Glosario

Agente inductor: Fármaco administrado generalmente por vía intravenosa, que induce anestesia general rápida y en consecuencia evita dolor al paciente.⁴⁸

Analgésico: Fármaco que disminuye o suprime el dolor.⁴⁸

Anestesia disociativa: Estado de indiferencia e incapacidad para integrar, clasificar y reaccionar a los estímulos del medio.⁴⁸

Anestesia local: Pérdida de la sensibilidad en un área determinada por inhibición de la transmisión de los estímulos dolorosos.⁴⁹

Anestesia regional: Insensibilidad de un área extensa aunque delimitada del cuerpo.

Anestesia: Estado de inconsciencia reversible inducido por los anestésicos generales.⁴⁸

Anestésico general: Fármaco que produce anestesia general reversible a profundidad suficiente para permitir la cirugía.⁴⁸

Anestésico: Fármaco que causa la parcial o total ausencia de sensibilidad.⁴⁹

Catalepsia: Es un trastorno de naturaleza neural que conlleva alteraciones motoras como la rigidez muscular, así como una marcada insensibilidad a estimulación externa.⁴⁹

Catatonía: Tipo de reacción esquizofrénica en la cual el individuo permanece sin hablar y sin moverse, assume posturas fijas y carece de la voluntad y se resiste a los intentos para activar el habla y los movimientos.⁴⁹

Curva dosis-respuesta cuantitativa: Gráfico que resulta de la integración de las respuestas individuales “todo o nada”, es decir, de aquellas en que el organismo sólo presenta uno de los estados, con respuestas o sin ellas, sin que puedan observarse estados intermedios.⁴⁹

DE₅₀: Es la dosis de fármaco que es eficaz en el 50% de los animales de un grupo o la dosis media eficaz.⁴⁸

DL₅₀: Término introducido para designar la dosis letal de un fármaco en el 50% de animales de un grupo.⁴⁸

Eutanasia: Procedimiento humanitario empleado para terminar con la vida de los animales de laboratorio, sin producirles dolor, angustia o sufrimiento.⁴⁸

Fármaco: Es una sustancia química de estructura conocida, diferente de un nutriente o un componente alimentario esencial, que produce un efecto biológico cuando se administra a un ser vivo.¹⁵

Hipnosis: Depresión de la conciencia médicamente controlada, en la que el paciente no puede ser despertado con facilidad. Puede acompañarse de la pérdida parcial o total de los reflejos protectores de la vía aérea y de la respuesta a la estimulación física.⁴⁹

Medicamento: Es una preparación química que, generalmente pero no necesariamente, contiene uno o más fármacos, que se administra con fines profilácticos, terapéuticos o de diagnóstico.⁵⁰

Sedación: Depresión mínima de la conciencia médicamente controlada, que permite mantener la vía aérea permeable de modo independiente y respuesta a la estimulación física.

Sedante: Agente depresor del sistema nervioso central capaz de abolir estados de irritabilidad o excitación en un animal.⁴⁹

Sinergismo: cuando 2 fármacos agonistas con una similar actividad intrínseca actúan para conseguir un efecto máximo con dosis mínima, es decir, cuando se administran 2 fármacos y se consigue un efecto máximo con la dosis mínima de cada fármaco.⁴⁹

Anexo 4. Cuadros de conversión a unidades Probit

Cuadro 17. Conversión de Probabilidad a Unidades Probit ³⁰

Probabilidad	0	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09
0		2.67	3.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
0.1	3.72	3.77	3.92	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
0.2	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
0.3	4.48	4.5	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
0.4	4.75	4.77	4.8	4.82	4.85	4.87	4.9	4.92	4.95	4.97
0.5	5	5.03	5.05	5.08	5.1	5.13	5.15	5.18	5.2	5.23
0.6	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.5
0.7	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.82
0.8	5.84	5.88	5.93	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
0.9	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33

Cuadro 18. Conversión de Porcentajes en Unidades de Probabilidades (probit)

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	===	2,674	2,546	3,119	3,249	3,355	3,445	3,524	3,595	3,659
10	3,718	3,772	3,625	3,874	3,920	3,964	4,005	4,045	4,085	4,122
20	4,158	4,194	4,228	4,261	4,254	4,326	4,357	4,387	4,417	4,447
30	4,476	4,504	4,532	4,560	4,587	4,515	4,642	4,668	4,695	4,721
40	4,747	4,773	4,798	4,824	4,849	4,274	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	5,222
60	5,253	5,279	5,205	5,332	5,358	5,385	5,413	5,440	5,456	5,496
70	5,524	5,553	5,583	5,613	5,643	5,874	5,706	5,789	5,772	5,806
80	5,842	5,979	5,915	5,954	5,994	5,086	6,080	6,126	6,175	5,227
	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	6,321	6,317	6,322	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	6,451	6,468
93	6,476	6,483	6,491	6,498	6,506	6,514	6,522	6,530	6,528	6,546
94	6,555	6,563	6,572	6,580	6,589	6,598	6,607	6,616	6,625	6,635
95	6,645	6,653	6,665	6,675	6,685	6,695	6,705	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	7,368	7,409	7,457	7,512	7,576	7,662	7,748	7,875	8,090

Los valores intermedios se obtuvieron mediante una regresión lineal.

REFERENCIAS

1. Pérez B, Soriano R, Villanueva O, Villegas F, Hernández R, Villegas F, et al. Guía de los anestésicos más utilizados en animales de laboratorio. México, D.F: Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán; 2007.p.17-82.
2. Cruz J. Recuerdo histórico de la anestesiología veterinaria. Consulta Difus Vet 2001; 9(77):129-130.
3. Goodman S, Gilman A, Brunton L, Lazo J, Parker K. Las bases de la farmacología de la terapéutica. 11ªed. México, D.F: Mc Graw-Hill Interamericana; 2006 .p. 331-5.
4. Olivares B. Estudio Histopatológico trans la Administración Crónica del 2,2,2-tribromoetanol en dos especies rata (*Rattus norvegicus*) y ratón(*Mus musculus*) Tesis. México, D.F: Facultad de Química, UNAM; 2008: 8-12.
5. Adams H. Farmacología y terapéutica veterinaria. 2ªed. Zaragoza, España: Acribia; 2003.p. 168-173.
6. Ruiz D. Determinación de la DE50, DL50 y Margen de seguridad del 2,2,2- Tri-bromoetanol en conejos de la cepa Nueva Zelanda (*Oryctolagus cuniculi*) Tesis. México, D.F: Facultad de Química, UNAM; 200: 16-32.
7. Nicandro P. Farmacología médica. México, D.F: Médica Panamericana; 2008.p. 338-344.
8. Lorenzo P, Velázquez, Moreno A. Lizasoain, Leza J. Moro M, et al. Farmacología Básica y Clínica. 18ªed. Madrid: Médica Panamericana .p. 2008: 241-2.
9. Taylor M, Reide P. Farmacología. Madrid, España: Harcourt; 2001.p. 21-37.
10. Kelly K. The litte Book of Ketamine. Berkeley, California: Ronin Publishing; 1999 .p. 82-90.
11. Colling V. Anestesiología Anestesia General y Regional. 3ªed. México: Mc Graw-Hill Interamericana; 1996.p. 743-796.
12. Downing H. Revisión del uso recreacional de la ketamina. Adicciones 2002; 14(2):177-189.
13. Booth N. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Zaragoza, España: Acribia; 1998.p. 231-289.
14. Flecknell P. Anestesia de animales de laboratorio. Introducción práctica para investigadores y técnicos. 2ªed. Zaragoza, España: Acribia; 1996.p. 15-68.
15. Boussarie D. Anestesia en nuevos animales de compañía (pequeños mamíferos). Vanguardia Vet 2003 Junio; 1(1):11-40.
16. Auxiliadora G, Zamora M. Manual Técnico. Anesket® Vet. Reg. sagarpa Q-7833-028. Pisa Agropecuaria. Pequeñas especies: 1-4.
17. Budavari S. The Merck Index: an enciclopedia of chemicals, drugs, and biological. 14ªed. United States of America: Merck; 1996.p. 904-5, 1722-7.

18. Rang H, Dale M, Ritter J, Hower R. Farmacología. 6 ed. Barcelona: Elsevier; 2008.p. 523-533.
19. López G, Zamora M. Manual técnico. Procin Equus. Reg. sagarpa Q-7833-111. Pisa Agropecuaria. Pequeñas especies: 1-3.
20. Bustamante H, Werner M. Efecto sedativo de la asociación xilazina-morfina en caninos. Arch Med Vet 2009; 41: 229-236.
21. Rodríguez R, Vidrio H, Efraín A. Guía de farmacología y terapéutica. México: Mc Graw Hill; 2007: 29-31.
22. Santiago C, Bandrés F, Gómez F. Polimorfismo de citocromo p450: papel como marcador biológico. Medicina del trabajo 2002; 11(3): 130-140.
23. Lahey B. Introducción a la psicología. España: Mc Graw Hill; 1999: 1-4.
24. White W. Matching the Circadian rhythms of hypertension with pharmacotherapy. Clin Cardiol 2003; 26(4):10-15.
25. Altamirano A. Manual de manejo de animales de laboratorio. México, D.F: UNAM; 1994.p. 35-62.
26. Storer T, Usinger R, Stebbins R, Nybakken J. Zoología General. 6ªed. Barcelona: OMEGA; 1982.p.281-305.
27. Fuentes F, Mendoza R, Rosales A, Cisneros R. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio. Lima, Perú: Instituto Nacional de Salud; 2008.p. 7-10.
28. Olivares A. Manual para manejo de animales de laboratorio. Tabasco: Universidad Juárez Autónoma de Tabasco División Académica de Ciencias Biológica; 1996.p.1-12.
29. Aceves G, Balderas J, García A, López A, López E, Valencia E. Manual de prácticas para el laboratorio de Evaluación de Fármacos y Medicamentos. México: UNAM; 2006.p. 20-7.
30. Benavides F, Guénet J. Manual de genética de roedores de principios básicos y aplicaciones. Texas, Estados Unidos: Universidad de Alcalá de Henares: 1995; 68-69.
31. Hernández Boland. La Eutanasia en los Animales de laboratorio. Centro de Investigación. Hospital General Universitario. Res surg 1990; (Suppl 5): 45-54.
32. Norma Oficial Mexicana NOM – 062 - ZOO – 1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. México; 1999. Diario Oficial de la Federación.
33. Rodríguez R, Vidrio H, Efraín A. Guía de farmacología y terapéutica. México: Mc Graw Hill; 2007.p. 29-31.
34. Gil A, Muñoz M. Nuevas transformaciones en experimentos biológicos basadas en respuesta cuantal. Bol Serv Plagas 1978; 4: 89-229.
35. Montgomery D. Diseño y análisis de experimentos. 2ª ed. México: Iberoamericano; 2000: 4-7.
36. Cervantes A. Análisis de varianza. Una breve introducción al diseño de experimentos de un factor. Boletín de la Academia de Estadística y Cómputo científico 2002 Diciembre; 1(6): 6-15.

37. Morales P. Introducción al Análisis de Varianza. Madrid, España: Universidad Pontificia Comillas; 2012: 2-19.
38. Anderson D, Sweeney D. Estadística. Administración y economía. México: Thomson Internacional; 2001:195-201
39. Bustamante R, González M, Hernández E, Herrera L, Amezcua M, Naranjo E, et al. Un interesante contenido Farmacológico para sesiones experimentales. México: Facultad de Química, UNAM; 2002: 65-7.
40. Ruza F. Tratado de cuidados intensivos pediátrico. 3ª ed. Madrid, España: Norma-Capitel; 2007: 145-150.
41. Belda E, Laredo F, Escobar M, Agust A, Soler M, Lucas X. Agonista α -2 adrenérgicos en sedación y anestesia veterinaria. An. Vet. 2005; 21:23-26.
42. Torres L. Tratado de anestesia y reanimación. Madrid: Arán; 2001: 3013-3015.
43. Laredo F, Redondo J, Gómez R, Belda E, Cruz J. La preanestesia: analgesia, inmovilización farmacológica, tranquilización y ansiolisis. Consulta Difus Vet 2001; 9(77): 37-50.
44. Valle P, Lucas B. Toxicología de alimentos. México, D.F: Instituto Nacional de Salud Publica Centro Nacional de Salud Ambiental; 2000:19-25.
45. Hedenqvist P. Anaesthesia and analgesia for surgery in rabbits and rats: A comparison of the effects of different compounds. Stockholm: Karolinska Institutet ; 2008.p. 2-20.
46. Waxman K, Shoemaker W, Lipp M. Cardiovascular effects of anesthetic induction with ketamine. Anesth. Analg 2012,115(5): 20-22.
47. Lee V, Flynt K, Haag L, Taylor D. Comparison of the effects of ketamine, ketamine- medetomidine, and ketamine- midazolam on physiologic parameters and anesthesia-induced stress in rhesus (macaca mulatta). Am Assoc Lab Anim Sci. 2010; 49(1): 57-63.
48. Bowman W. Diccionario de farmacología. Barcelona, España: Ediciones Medici; 1988:15-25,81-90.
49. Figueroa J. Glosario farmacológico. México:Limusa; 1999:107-150.
50. Serrano R. Introducción al análisis de datos experimentales: tratamiento de datos en bioensayos. Castellón de la Plana, España. Universitat Jaume I; 2003: 67-82.