

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

Departamento de Medicina y Cirugía Animal



TESIS DOCTORAL

**Efectos de la ketamina o la alfaxalona y su combinación con diazepam
o dexmedetomidina en el cerdo**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

Blanca Torrent Bertrán de Lis

Directores

**Martín Santos González
Francisco Javier Tendillo Cortijo**

Madrid, 2016

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

Departamento de Medicina y Cirugía Animal



TESIS DOCTORAL

**Efectos de la ketamina o la alfaxalona y su combinación con
diazepam o dexmedetomidina en el cerdo**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Blanca Torrent Bertrán de Lis

Bajo la dirección de los Doctores:

Martín Santos González
Francisco Javier Tendillo Cortijo

Madrid, 2015

D. Martín Santos González, Doctor en Veterinaria, Facultativo Especialista de Área Veterinario de la Unidad de Investigación Médico-Quirúrgica del Instituto de Investigación Sanitaria Puerta de Hierro/Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda.

D. Francisco Javier Tendillo Cortijo, Doctor en Veterinaria y Doctor en Medicina y Cirugía, Facultativo Especialista de Área Veterinario de la Unidad de Investigación Médico-Quirúrgica del Instituto de Investigación Sanitaria Puerta de Hierro/Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda.

Certifican:

Que Dña. Blanca Torrent Bertrán de Lis, Licenciada en Veterinaria, ha realizado bajo nuestra dirección el trabajo experimental titulado **Efectos de la ketamina o la alfaxalona y su combinación con diazepam o dexmedetomidina en el cerdo**, que ha sido desarrollado en la Unidad de Investigación Médico-Quirúrgica del IIS Puerta de Hierro/Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda para optar al grado de Doctor en Veterinaria.

Dicho trabajo reúne, a nuestro juicio, las condiciones de originalidad y rigor metodológico necesarias para que pueda ser sometido a su lectura y defensa pública ante la comisión correspondiente.

Madrid, a 29 de octubre de 2015

Fdo. Dr. M. Santos González

Fdo. Dr. FJ. Tendillo Cortijo

Dime y lo olvido, enséñame y lo recuerdo, involúcrame y lo aprendo.

(Benjamín Franklin)

A mi familia

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar deseo expresar mi más sentido agradecimiento a mis directores de tesis:

Al Doctor Martín Santos González, por transmitirme su interés y pasión por la anestesia, acogiéndome más tarde con entusiasmo como interna de anestesia cuando era una cachorrilla en este mundo, guiando y cuidando mis pasos desde entonces, por su eterna confianza en mí y ser el motor de este trabajo, por su paciencia, apoyo y amistad desinteresada durante estos años.

Al Doctor Francisco Javier Tendillo Cortijo, por animarme a realizar el doctorado y admitirme en su equipo de investigación, por estos años en los que además de transmitirme su constante apoyo y sus conocimientos, me ha enseñado que por cada error que se comete por no saber, se cometen cien más por no fijarse.

A mi tutor, el Doctor Javier López San Román, por abrirme la puerta de su departamento desde que llegué a la facultad de veterinaria de la UCM y haber colaborado en este trabajo en todo lo que estaba a su alcance.

Al personal del Hospital Universitario Puerta de Hierro de Majadahonda: al Doctor Santiago Méndez, responsable de los cursos de radiología intervencionista, por dejarme utilizar los animales empleados en los talleres para mi tesis. A mi compi de hospital, Cristina Orden, y a Lola, auxiliar del servicio de cirugía experimental, por estar presentes durante la realización de los experimentos, compartiendo experiencias, comidas y risas y ayudándome cuando lo necesitaba siempre con una sonrisa.

A todos los que en algún momento han colaborado en este trabajo: al equipo de la hemeroteca de la facultad de veterinaria de la UCM, por facilitarme tantos artículos de

manera tan eficiente que de otro modo hubiera sido imposible conseguir. Al profesor Marcus Brandão, del Instituto de Neurociencias e Comportamento (INeC) de la Universidad de São Paulo de Brasil, al Doctor Víctor Matías Naverrete-Zuazo, jefe del servicio de anestesiología de la Clínica Central Cira García en México, a la Doctora María Jesús Oset Gasque, del departamento de bioquímica de la facultad de farmacia de la UCM, y a Myriam Belá, del equipo del Dr Hdralo, pues sin conocerme de nada respondieron a mi solicitud, proporcionándome los datos, publicaciones e imágenes de sus estudios que he necesitado.

Tampoco este proyecto hubiera podido realizarse sin el suministro generoso de Alfaxan[®] por parte de Álvaro Ortega, veterinario técnico especialista del laboratorio Vetoquinol.

A Sara, que además de animarme a emprender este viaje, ha contribuido aportándonos de su clínica y de forma desinteresada la dexmedetomidina, tan fundamental en este estudio.

A todos los valientes viajeros que se han embarcado conmigo en este barco: a Zaira, por sus consejos y aportaciones al proyecto sobre farmacología. A Clara, por escucharme pacientemente y las interesantes conversaciones sobre psicobiología. A mis amigos de la radio, Carlos y Jokin, por acompañarme y animarme con sus emisiones día a día. A mis compañeros y amigos de la UAX: Ana Cristina, Jorge, Ana Tabera, Gloria, Gal·la, mi estimable Marta “Holmes”, y sin duda mi sherpa Cristina Guerra, por su apoyo incondicional y ánimos constantes, ¡hasta la luna y vuelta! A Manuel y sus búhos, por vigilar con cariño y esmero el desarrollo de esta tesis y asegurarse de que llegara a buen puerto.

A mi padrino, Ángel Soutullo, que una tarde de octubre al salir del colegio me abrió la puerta al mundo veterinario y me dijo: “ponte los guantes y ayúdame a esterilizar a esta

gatita...”, por todos estos años de cirugías, momentos inolvidables y palabras de ánimo en los momentos más duros y difíciles, en los que no ha dejado de educarme, enseñarme y ayudarme como un miembro más de mi familia.

A mis hermanos, por su amor, tiempo, dedicación, cariño y ánimos que me han dedicado durante todo este tiempo, porque siempre están ahí incondicionalmente y sin fisuras en los buenos y malos momentos, porque sin ellos esto nunca hubiera sido posible.

Por último, y de manera especial, a la persona más importante de mi vida, mi madre y amiga, por su aliento y empeño inquebrantable en que cumpliera mi sueño de ser veterinaria.

A todos los que están, a los que faltan, y a los que ya se fueron, GRACIAS.

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS, xix

LISTA DE TABLAS, xxi

LISTA DE FIGURAS, xxiii

RESUMEN, xxv

SUMMARY, xxxi

1. INTRODUCCIÓN, 1

1.1. ANTECEDENTES, 1

1.2. AGONISTAS DE LOS RECEPTORES ADRENÉRGICOS α_2 , 5

1.2.1. Receptores adrenérgicos, 5

1.2.1.1. Clasificación de los receptores adrenérgicos, 7

1.2.1.2. Estructura y localización de los receptores adrenérgicos, 9

1.2.2. Receptores adrenérgicos α_2 , 12

1.2.2.1. Localización y funciones de los receptores adrenérgicos α_2 , 12

1.2.2.2. Subdivisión de los receptores adrenérgicos α_2 , 14

1.2.3. Agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 , 16

1.2.3.1. Dexmedetomidina, 17

1.2.3.1.1. Mecanismo de acción del efecto sedante y analgésico, 19

1.2.3.1.2. Farmacocinética, 20

1.2.3.1.3. Farmacodinamia, 23

1.2.3.1.3.1. Efectos sobre el SNC, 23

1.2.3.1.3.2. Efectos cardiovasculares, 25

1.2.3.1.3.3. Efectos respiratorios, 26

1.2.3.1.3.4. Otros efectos, 26

- 1.2.3.1.3.5. Efectos adversos, 28
- 1.2.3.1.4. Uso clínico en el cerdo, 28
- 1.3. BENZODIACEPINAS, 30
 - 1.3.1. Ácido γ -aminobutírico y receptores gabaérgicos, 31
 - 1.3.1.1. Farmacología y estructura del receptor GABA_A, 32
 - 1.3.1.2. Modulación de los receptores GABA_A, 34
 - 1.3.2. Benzodiazepinas, 35
 - 1.3.2.1. Diazepam, 35
 - 1.3.2.1.1. Mecanismo de acción sobre el SNC, 37
 - 1.3.2.1.2. Farmacocinética, 39
 - 1.3.2.1.3. Farmacodinamia, 41
 - 1.3.2.1.3.1. Efectos sobre el SNC, 41
 - 1.3.2.1.3.2. Efectos cardiovasculares, 42
 - 1.3.2.1.3.3. Efectos respiratorios, 42
 - 1.3.2.1.3.4. Otros efectos, 43
 - 1.3.2.1.3.5. Efectos adversos, 43
 - 1.3.2.1.4. Uso clínico en el cerdo, 44
 - 1.3.2.1.4. Uso clínico en el cerdo, 44
 - 1.3.3. Neuroesteroides, 46
 - 1.3.3.1. Alfaxalona, 48
 - 1.3.3.1.1. Mecanismo de acción sobre el SNC, 50
 - 1.3.3.1.2. Farmacocinética, 52
 - 1.3.3.1.3. Farmacodinamia, 53
 - 1.3.3.1.3.1. Efectos sobre el SNC, 53
 - 1.3.3.1.3.2. Efectos cardiovasculares, 53
 - 1.3.3.1.3.3. Efectos respiratorios, 53

1.3.3.1.3.4.	Otros efectos,	54
1.3.3.1.3.5.	Efectos adversos,	54
1.3.3.1.4.	Uso clínico en el cerdo,	54
1.4.	ANESTÉSICOS DISOCIATIVOS,	56
1.4.1.	Glutamato y receptores glutamaérgicos,	57
1.4.1.1.	Receptores metabotrópicos (mGluR),	58
1.4.1.2.	Receptores ionotrópicos,	59
1.4.2.	Receptores del N-Metil-D-Aspartato (NMDA),	60
1.4.2.1.	Funcionamiento de los receptores NMDA,	60
1.4.2.2.	Estructura de los receptores NMDA,	61
1.4.3.	Fármacos disociativos,	63
1.4.3.1.	Ketamina,	64
1.4.3.1.1.	Mecanismo de acción sobre el SNC,	66
1.4.3.1.2.	Farmacocinética,	70
1.4.3.1.3.	Farmacodinamia,	72
1.4.3.1.3.1.	Efectos sobre el SNC,	72
1.4.3.1.3.2.	Efectos cardiovasculares,	73
1.4.3.1.3.3.	Efectos respiratorios,	74
1.4.3.1.3.4.	Otros efectos,	75
1.4.3.1.3.5.	Efectos adversos,	76
1.4.3.1.4.	Uso clínico en el cerdo,	76
1.5.	JUSTIFICACIÓN,	79
2.	OBJETIVOS,	81
3.	MATERIAL Y MÉTODO,	83
3.1.	ANIMALES,	83

3.2. PERSONAL,	83
3.3. METODOLOGÍA,	84
3.3.1. Grupos de estudio,	84
3.3.2. Procedimiento,	88
3.4. ESTUDIO ESTADÍSTICO,	92
4. RESULTADOS,	95
4.1. EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS CUALITATIVOS,	95
4.1.1. Dolor a la inyección,	95
4.1.2. Tiempo de decúbito lateral,	96
4.1.3. Calidad de la inducción,	97
4.1.4. Grado de sedación,	98
4.1.5. Calidad de la intubación,	99
4.2. EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS CARDIORRESPIRATORIOS,	100
4.2.1. Frecuencia cardíaca,	100
4.2.2. Frecuencia respiratoria,	101
4.2.3. Saturación de O ₂ ,	103
4.2.4. Presión parcial de CO ₂ tele-espíatorio,	104
5. DISCUSIÓN,	107
5.1. LIMITACIONES DE LA METODOLOGÍA,	107
5.2. EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS CUALITATIVOS,	109
5.2.1. Dolor a la inyección,	109
5.2.2. Tiempo de decúbito lateral,	112
5.2.3. Calidad de la inducción,	114
5.2.4. Grado de sedación,	117
5.2.5. Calidad de la intubación,	119

5.3. EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS CARDIORRESPIRATORIOS,	124
5.3.1. Frecuencia cardiaca,	124
5.3.2. Frecuencia respiratoria,	126
5.3.3. Saturación de O ₂ ,	128
5.3.4. Presión parcial de CO ₂ tele-espiratorio,	129
6. CONCLUSIONES,	131
7. BIBLIOGRAFÍA,	133

LISTA DE ABREVIATURAS

A: Alfaxalona

AD: Alfaxalona-Diazepam

ADX: Alfaxalona-Dexmedetomidina

AlloP: Alopregnanolona

AMPA: Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico

EEG: Electroencefalograma

EtCO₂: Presión parcial de dióxido de carbono tele-espирatorio

FC: Frecuencia cardiaca

FR: Frecuencia respiratoria

G: Grupo

GABA: Ácido γ -aminobutírico

GDP: Guanosín bifosfato

Glu: Glutamato

GTP: Guanosín trifosfato

HPCD: Hidroxipropil- β -ciclodextrina

IM: Intramuscular

IV: Intravenoso

K: Ketamina

KD: Ketamina-Diazepam

KDX: Ketamina-Dexmedetomidina

LC: Locus ceruleus

lpm: Latidos por minuto

mGluR: Receptores metabotrópicos

mmHg: Milímetros de mercurio

n: Tamaño de muestra

NMDA: N-Metil-D-Aspartato

NR1: Subunidad 1 NMDA

NR2: Subunidad 2 NMDA

PaCO₂: Presión parcial de dióxido de carbono en sangre arterial

PAM: Presión arterial media

PaO₂: Presión parcial de oxígeno en sangre arterial

rpm: Respiraciones por minuto

SNC: Sistema nervioso central

SpO₂: Saturación de oxígeno

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1. Funciones fisiológicas asociadas con los receptores adrenérgicos α_2 a nivel periférico, 13

Tabla 1.2. Funciones fisiológicas asociadas a los receptores α_2 adrenérgicos en el SNC, 14

Tabla 1.3. Localización y efectos fisiológicos de los subtipos de receptores adrenérgicos α_2 en el sistema nervioso central y periférico, 15

Tabla 1.4. Producción del efecto analgésico de la ketamina, 68

Tabla 1.5. Combinaciones de la ketamina para uso intramuscular en el cerdo, 78

Tabla 4.1. Valoración del dolor a la inyección, 95

Tabla 4.2. Datos estadísticos del tiempo de decúbito lateral, 96

Tabla 4.3. Tiempo de decúbito lateral, 96

Tabla 4.4. Valoración de la calidad de la inducción, 98

Tabla 4.5. Valoración del grado de sedación, 99

Tabla 4.6. Valoración de la calidad de la intubación, 100

Tabla 4.7. Valores de la FC tomados a los 5 y a los 10 minutos de la administración de los fármacos, 101

Tabla 4.8. Valores medios de la FR tomados a los 5 y a los 10 minutos de la administración de los fármacos, 102

Tabla 4.9. Valores medios de la SpO₂ tomados a los 5 y a los 10 minutos de la administración de los fármacos, 103

Tabla 4.10. Valores medios del EtCO₂ tomados a los 5 y a los 10 minutos de la administración de los fármacos, 104

Tabla 4.11. Datos estadísticos de la FC, 105

Tabla 4.12. Datos estadísticos de la FR, 105

Tabla 4.13. Datos estadísticos de la SpO₂, 106

Tabla 4.14. Datos estadísticos de la EtCO₂, 106

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1.** Estructura de los receptores adrenérgicos, 10
- Figura 1.2.** Estructura química de la dexmedetomidina, 18
- Figura 1.3.** Receptor pentámero GABA_A y canal de cloro asociado, 33
- Figura 1.4.** Estructura química del diazepam, 36
- Figura 1.5.** Estructura química de la alfaxalona (izquierda) y alfadolona (derecha), 47
- Figura 1.6.** Estructura receptor NMDA, 62
- Figura 1.7.** Estructura química de la ketamina, 64
- Figura 3.1.** Presentación comercial de la ketamina, 85
- Figura 3.2.** Presentación comercial del diazepam, 86
- Figura 3.3.** Presentación comercial de la dexmedetomidina, 86
- Figura 3.4.** Presentación comercial de la alfaxalona, 87
- Figura 3.5.** Hoja de recogida de datos, 89
- Figura 3.6.** Monitor respiratorio para registro de la SpO₂, 90
- Figura 3.7.** Sensor de pulsioximetría, 91
- Figura 3.8.** Capnómetro conectado a máscara de Hall para la medición de la frecuencia respiratoria y EtCO₂, 91
- Figura 4.1.** Tiempo de decúbito lateral, 97
- Figura 4.2.** Representación gráfica de los cambios experimentados por la FC a los 5 y a los 10 minutos de la administración de los fármacos de estudio, 101
- Figura 4.3.** Representación gráfica de los cambios experimentados por la FR a los 5 y a los 10 minutos de la administración de los fármacos de estudio, 102

Figura 4.4. Representación gráfica de los cambios experimentados por la SpO₂ a los 5 y a los 10 minutos de la administración de los fármacos de estudio, 103

Figura 4.5. Representación gráfica de los cambios experimentados por el EtCO₂ a los 5 y a los 10 minutos de la administración de los fármacos de estudio, 104

RESUMEN

Introducción.- La especie porcina constituye hoy en día la de elección en muchos modelos experimentales utilizados en investigación, debido principalmente, a sus similitudes anatómicas y fisiológicas y a su reactividad farmacológica con el hombre; sin embargo son animales de difícil manejo que se estresan con facilidad, por lo que la vía intramuscular constituye la vía más cómoda y fácil de utilizar.

Tradicionalmente se ha utilizado, para la tranquilización y anestesia de la especie porcina la ketamina, combinada con benzodiazepinas o con agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 habituales; sin embargo, recientemente se están empleando nuevos y potentes fármacos para la tranquilización y anestesia de esta especie, entre los que se encuentran la dexmedetomidina, un agonista potente, eficaz y selectivo de los receptores adrenérgicos α_2 sobre el sistema nervioso central y periférico. La bradicardia e hipotensión se encuentran entre sus efectos adversos más comunes, sin embargo ejerce un efecto leve sobre la ventilación y produce un excelente efecto sedante y antinociceptivo, disminuyendo los requerimientos de otros fármacos anestésicos intravenosos, con la ventaja de poder ser antagonizada, por lo que viene siendo utilizada en medicina veterinaria tanto en el campo de la anestesiología clínica como en la captura y manejo de animales exóticos. La dexmedetomidina se ha empleado tanto en medicina humana como en veterinaria de forma parenteral sola y/o combinada con ketamina o alfaxalona.

La alfaxalona es un esteroide neuroactivo que al igual que otros anestésicos y sedantes como los barbitúricos y las benzodiazepinas, potencia la unión y modulación de los efectos inhibitorios del ácido γ -aminobutírico (GABA) sobre el receptor $GABA_A$, produciendo anestesia y relajación muscular. La actual formulación de la molécula de alfaxalona utilizando 2α -hidroxipropil- β -ciclodextrina (Alfaxan[®]), proporciona una

inducción anestésica suave, con mínimos cambios cardiorrespiratorios y temblores musculares durante la inducción y recuperación, no libera histamina y su administración intramuscular no causa dolor ni irritación.

Hasta el momento de la realización de esta investigación, no se han evaluado ni publicado estudios sobre los efectos anestésicos y cardiorrespiratorios de la alfaxalona, sola o en combinación con diazepam o dexmedetomidina, ni de la ketamina con dexmedetomidina tras su administración intramuscular en la especie porcina.

Dada la dificultad en el manejo de la especie porcina y su importancia como modelo de experimentación, la investigación de nuevos protocolos intramusculares que permitan reducir el estrés de los animales y la mejora de la investigación es alentadora; por ello, resulta importante el conocimiento de las acciones anestésicas de todos estos agentes farmacológicos y de los parámetros fisiológicos y particularidades anestésicas de los cerdos con el fin de elegir el protocolo anestésico más adecuado, pues la interacción que podrían tener estos fármacos, por ejemplo con los sistemas cardiovascular y respiratorio, podrían producir importantes consecuencias en el rendimiento y calidad de la investigación.

Objetivos.- El objetivo principal de este trabajo es evaluar y comparar la ketamina frente a la alfaxalona, solas o en combinación con diazepam o dexmedetomidina para su administración intramuscular en el cerdo.

Metodología.- Se utilizaron un total de 42 cerdos cruce de las razas Landrace y Large White, con un peso (media \pm DS) de 21.8 ± 1.6 kg y 2 meses de edad. Todos los animales fueron tratados de acuerdo a las normativas europeas y nacionales sobre el cuidado y la protección de los animales de experimentación. El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Experimentación Animal y el Órgano Habilitado del Instituto de Investigación Sanitaria

Puerta de Hierro y autorizado por el Órgano Competente de la Comunidad Autónoma de Madrid.

Antes de los procedimientos, los animales fueron sometidos a un ayuno previo de 8 horas de comida, pero no de agua, desde la noche anterior. El día del estudio los animales fueron distribuidos de manera aleatoria en 6 grupos, constituidos por 7 animales cada uno, administrándose en la musculatura lumbar del cerdo los siguientes fármacos y dosis en cada grupo: grupo K: 10 mg/kg de ketamina (Imalgene[®], Merial, España); grupo KD: 10 mg/kg de ketamina y 0.5 mg/kg de diazepam (Valium[®], Roche, España); grupo KDX: 10 mg/kg de ketamina y 10µgr/kg de dexmedetomidina (Dexdomitor[®], Esteve, España); grupo A: 5 mg/kg de alfaxalona (Alfaxan[®], Vetoquinol, España); grupo AD: 5 mg/kg de alfaxalona y 0.5 mg/kg de diazepam; grupo ADX: 5 mg/kg de alfaxalona y 10µgr/kg de dexmedetomidina.

El estudio fue ciego, de tal manera que el investigador encargado de evaluar la calidad de la sedación e inducción desconocía el grupo de pertenencia del animal, por lo que todos los fármacos fueron disueltos en solución salina hasta obtener un volumen de 14 ml.

Con el fin de evaluar el **dolor a la inyección**, se precolocó, en la musculatura lumbar, una aguja hipodérmica unida a un prolongador de línea venosa, y después de confirmar la ausencia de cualquier tipo de malestar provocado por ésta, se llevó a cabo la administración de los fármacos en 20-30 segundos y evaluado el dolor a la inyección como: ausencia de dolor; dolor leve (movimiento de cola y girando la cabeza hacia el lado de la inyección); dolor moderado (intentos de retirar la aguja mediante el rascado de la pared); dolor intenso (vocalización y gran movimiento que requiere control manual).

Durante el procedimiento fue contabilizado el **tiempo hasta el decúbito lateral** y evaluada la **calidad de la inducción** teniendo en cuenta la presencia o ausencia de los siguientes factores: relajación, temblores/pedaleos/cabeceos, excitación,

vocalización/nistagmos, salivación/orina como: buena (sin signos de excitación, rápido decúbito lateral y buena relajación muscular); regular (leve excitación con o sin gruñidos, espasmos musculares o movimiento de las extremidades); mala (excitación marcada con o sin gruñido, espasmos musculares, movimiento de braceo de las extremidades y movimientos de la cabeza); muy mala (excitación severa y vocalización).

Una vez que los animales estuvieron en decúbito lateral, se evaluaron las variables fisiológicas y los reflejos mandibular, palpebral y corneal a los cinco y diez minutos después de la inyección de los fármacos. Con el fin de evaluar los diferentes parámetros fisiológicos, se procedió a la monitorización continua de la saturación de oxígeno de la hemoglobina (SpO₂) y de la frecuencia cardíaca (FC) por oximetría de pulso. La frecuencia respiratoria (FR) fue registrada por un lado visualizando y contabilizando los movimientos respiratorios torácicos en un minuto, y comprobada por otro lado, junto a la presión parcial de CO₂ tele-espирatorio (EtCO₂), mediante visualización en un capnómetro.

La apnea fue definida como el periodo de tiempo de 20 segundos sin evidencias físicas de respiración, y la duración calculada como la diferencia de tiempo entre que el animal deja de respirar y la 1ª inspiración espontánea.

Diez minutos después de haberse administrado los fármacos y después de registrar las variables fisiológicas y los reflejos, se evaluó el **grado de sedación** en base al grado de desorientación y desconexión y a la posibilidad de manejo y respuesta a estímulos sensitivos y/o sonoros como: ningún efecto; sedación leve (tranquilo, reacio a moverse, pero reaccionan a estímulos ruidosos); sedación moderada (incapaz de moverse, no reacciona a estímulos ruidosos o físicos); sedación profunda (depresión central acompañado de somnolencia y no reacciona a los estímulos ruidosos o físicos). Durante el estudio, los animales sólo fueron estimulados para la evaluación de las variables fisiológicas y de los reflejos así como del grado de sedación.

A continuación los animales fueron transportados al quirófano, y una vez allí, en los animales que habían perdido el reflejo mandibular, se intentó la maniobra de intubación evaluándose la **calidad de la intubación** como: buena (sin deglución, ni tos, ni tono mandibular ni movimiento de la lengua); regular (algún movimiento de la lengua y ligera tos); mala (marcado movimiento de la lengua y mandíbula y deglución o tos); muy mala (igual que mala y requiere además dosis adicionales de propofol y segundo intento de intubación).

Resultados.- La alfaxalona, al contrario que la ketamina, no produce irritación ni dolor en la especie porcina cuando se administra sola intramuscularmente. Ambos tratamientos mejoran cuando se mezclan con diazepam, pero es la suma de la dexmedetomidina a la ketamina, la que reduce notablemente la incidencia y grado de dolor.

Aunque el tiempo hasta el decúbito lateral fue significativamente mayor en el grupo A frente al grupo K (282 ± 70 frente a 157 ± 26 segundos respectivamente), la adición de diazepam o dexmedetomidina redujo este tiempo de forma estadísticamente significativa (203 ± 41 segundos en el grupo AD y 206 ± 36 segundos en el grupo ADX) respecto al grupo A, no así en los grupos de KD y KDX, en los que aumentó en comparación al grupo K.

La calidad de la inducción fue comparativamente peor en los grupos en los que utilizó ketamina, incluso con la adición de diazepam o dexmedetomidina, siendo calificadas como mala, regular-mala y regular-buena respectivamente, que los grupos equivalentes tratados con alfaxalona, en los que fueron puntuadas como regular-mala, regular-buena y buena, con una mayor relajación muscular y menor incidencia de temblores musculares.

Tanto la administración intramuscular de ketamina como de la alfaxalona produjeron una sedación moderada cuando se emplearon solas, que fue profundizada al añadir diazepam y especialmente dexmedetomidina, alcanzando con ésta un grado moderado-profundo en el

grupo KDX, y profundo en todos los animales del grupo ADX, suprimiendo el reflejo mandibular en la mayoría de los animales de dichos grupos. No obstante no fue suficiente para abolir también el reflejo de deglución, por lo que la maniobra de intubación solo pudo llevarse a cabo en un animal de cada grupo, siendo calificada como regular.

Si bien la administración intramuscular de alfaxalona, sola o combinada con diazepam o dexmedetomidina en la especie porcina genera una significativa depresión respiratoria en comparación a los protocolos equivalentes de la ketamina, no se ha producido apnea en ningún animal de este estudio, manteniendo estables los niveles de saturación de oxígeno. No se han observado cambios estadísticamente significativos en los valores de FC, SpO₂ y EtCO₂ entre los diferentes grupos.

Conclusiones.- En conclusión, aunque la alfaxalona, sola o con diazepam administradas intramuscularmente producen una mejor calidad de inducción y sedación que la ketamina sola o combinada con diazepam, es la unión de la dexmedetomidina a la ketamina o a la alfaxalona la que acorta el tiempo del decúbito y la mejora la sedación con una mayor relajación muscular, generando con la alfaxalona una sedación más profunda con menos excitación y una mayor estabilidad cardiorrespiratoria. Sin embargo, a pesar de resultar una combinación útil para la tranquilización de la especie porcina, el volumen de inyección necesario de la alfaxalona pueden limitar su uso como agente preanestésico a cerdos de pequeño tamaño.

Palabras clave.- Alfaxalona, dexmedetomidina, ketamina, diazepam, cerdo, premedicación, sedación.

SUMMARY

Introduction.- The swine is the option used in many experimental research models, primarily due to its anatomical and physiological similarities and because of its pharmacological reactivity with humans; however these animals are not easy to handle and get stressed easily, so the intramuscular route is the most convenient and easy way to use.

Ketamine has been traditionally used for the tranquillization and anesthesia of swine, combined with benzodiazepines or with common α_2 adrenergic receptor's agonist. However, powerful new drugs for are recently being used for this type of tranquillization and anesthesia, among which we find dexmedetomidine, a powerful, effective and selective agonist of α_2 adrenergic receptors on the central and peripheral nervous system. Bradycardia and hypotension are among their most common adverse effects, however it has a slight effect on ventilation and produces an excellent sedative and antinociceptive effect, reducing the requirements for other intravenous anesthetic drugs, with the advantage of being antagonized. It is for this reason that it has been used in veterinary medicine both in the field of clinical anesthesiology and the capture and management of exotic animals. Dexmedetomidine has been used in both human and veterinary medicine in parenteral form alone and / or combined with ketamine or alphaxalone.

Alfaxalone is a neuroactive steroid like other anesthetics and sedatives such as barbiturates and benzodiazepines, and it empowers the union and modulation of the inhibitory effects of γ -aminobutyric acid (GABA) on the GABA_A receptor, producing anesthesia and muscle relaxation. The current formulation of the molecule alfaxalone using 2 α -hydroxypropyl- β -cyclodextrin (Alfaxan[®]) provides a smooth anesthesia induction with minimal cardiorespiratory changes and muscle tremors during induction and recovery, it does not release histamine and its intramuscular administration does not cause pain or irritation.

Up to the completion of this investigation, they have not been assessed or published studies on anesthetic and cardiorespiratory effects of alfaxalone alone or in combination with diazepam or dexmedetomidine, or concerning ketamine with dexmedetomidine after intramuscular administration in pigs.

Given the difficulty in handling swine and its importance as an experimental model, research on new intramuscular protocols to reduce animal stress and improve research is encouraging; therefore, it is important to know the anesthetic effects of these pharmacological agents, physiological parameters and anesthetic particularities of pigs in order to choose the most appropriate anesthetic protocol because the interaction that these drugs may have, for example on cardiovascular and respiratory systems, could produce a significant impact on the performance and quality of research.

Objectives.- The main objective of this study is to evaluate and compare ketamine against alfaxalone, alone or in combination with diazepam or dexmedetomidine for intramuscular administration in pigs.

Methodology.- Forty two healthy 2 month-old Landrace x Large White pigs weighing (mean \pm SD) 21.8 ± 1.6 kg were the subjects of the study. All animals were handled according to European and national regulations on the protection of experimental animals (Directive 2010/63/UE and RD 53/2013) and the study was approved by the ethic committee for animal research, IIS Puerta de Hierro-Majadahonda, Spain.

Prior to the day of the study, pigs were subjected to a previous 8 hour deprived of food, but not of water, overnight. The day of the study pigs were randomly distributed into 6 groups, consisting of 7 animals each, administered in the lumbar muscles of swine these drugs and doses in each group: group K: 10 mg/kg of ketamine (Imalgene[®], Merial, España); group KD: 10 mg/kg ketamine and 0.5 mg/kg of diazepam (Valium[®], Roche, España); group

KDX: 10 mg/kg of ketamine and 10 μ gr/kg of dexmedetomidine (Dexdomitor[®], Esteve, España); group A: 5 mg/kg of alfaxalone (Alfaxan[®], Vetoquinol, España); group AD: 5 mg/kg de alfaxalone and 0.5 mg/kg of diazepam; group ADX: 5 mg/kg of alfaxalone and 10 μ gr/kg of dexmedetomidine. This has been a blind experiment. This means that the investigator in charge of evaluating the quality of sedation and induction was unaware of the study group the animal belonged to, so that all the drugs were dissolved in saline to obtain a volume of 14 ml.

In order to assess **pain on injection**, the needle was attached to a line extension and preplaced into the muscle. After confirming the absence of any discomfort as a result of the needle, the drugs were administered via a line extension over a period of 20-30 seconds, and the pain on injection was scored as: no pain; mild pain (movement of tail and turning head towards injection side); moderate pain (attempting to remove the needle scratching the wall); severe pain (vocalization and major movement requiring manual restraint).

During the procedure was counted **time to lateral recumbency** and evaluated the **quality of the induction** considering the presence or absence of the following factors: relaxation, tremors / pedaling / head movements, excitement, vocalization / nystagmus, salivation / urine as: smooth (without excitement, quick lateral recumbency and good muscle relaxation); fair (slight excitement and muscle twitching or movement of limbs); poor (marked excitement, muscle twitching, paddling of limbs and head movements); very poor (severe excitement and vocalization).

Once pigs became recumbent, physiological variables and mandibular, palpebral and corneal reflexes were evaluated at five and ten minutes after drug administration. In order to evaluate physiological parameters, pulse rate (PR) and oxygen saturation of haemoglobin (SpO₂) were monitored continuously by pulse oximetry using a probe placed on the tail. The respiratory rate (RR) was recorded counting thoracic respiratory movements in a minute, and

visualizing and monitored with endtidal carbon dioxide (EtCO₂) via a facemask connected to a quantitative mainstream capnometer.

Apnea was defined as a time period of 20 seconds without physical evidences of breathing, and duration calculated as the time difference between the animal ceasing to breathe and the 1st spontaneous inspiration.

Ten minutes after the drugs have been administered and the physiological variables and reflexes were recorded, the degree of sedation was evaluated by scoring the pigs' apparent degree of unawareness of their surroundings and the possibility of management and response to sensory stimuli and / or sound as: no effect; mild sedation (quiet, reluctant to move but reacts to noise stimulus); moderate sedation (unable to move but reacts to noise or physical stimulus); and deep sedation (central depression accompanied by drowsiness, does not react to noise or physical stimulus). During the study, the pigs were not stimulated other than by assessment of physiological variables, evaluation of reflexes and by assessment of the level of sedation.

Pigs were transported to the surgery room, and once there, in the animals that had lost the mandibular reflex, intubation was attempted evaluating the **quality of intubation** as: good (without swallowing or cough, or jaw tone or tongue movement); fair (some movement of the tongue and slight cough); poor (marked movement of the tongue and jaw and swallowing or cough); very poor (like bad and also requires additional doses of propofol and second attempt at intubation).

Results.- Alfaxalone, unlike ketamine, does not produce irritation or pain in pigs when administered alone intramuscularly. Both treatments improve when mixed with diazepam, but it is the sum of dexmedetomidine to ketamine which significantly reduces the incidence and degree of pain.

Although the time to the lateral decubitus was significantly higher in group A compared to group K (282 ± 70 versus 157 ± 26 seconds respectively), the addition of diazepam or dexmedetomidine statistically reduced this time significantly (203 ± 41 seconds in group AD and 206 ± 36 seconds in group ADX) compared to group A. This did not occur in groups and KD and KDX, where it increased compared to group K.

The quality of induction was comparatively worse in the groups that used ketamine, even with the addition of diazepam or dexmedetomidine being classified as poor, fair-poor and fair-good respectively, than comparable groups treated with alfaxalone which were rated as fair-poor, fair-good and good, with increased muscle relaxation and reduced incidence of muscle tremors.

Both the intramuscular administration of ketamine and alfaxalone produced moderate sedation when used alone, which was increased by adding diazepam and especially dexmedetomidine, thus obtaining a deep-moderate level in the KDX group and a deep level in all the animals of group ADX, suppressing mandibular reflection in most animals within such groups. However it was not enough to also abolish the swallowing reflex, so the intubation maneuver could only be performed in an animal from each group, being described as fair.

While the intramuscular administration of alfaxalone, alone or combined with diazepam or dexmedetomidine in swine generates significant respiratory depression compared to equivalent protocols with ketamine, there has been no signs of apnea in any animal of this study, maintaining stable levels of oxygen saturation. No statistically significant changes have been observed in the values of FC, SpO₂ and EtCO₂ among the different groups.

Conclusions.- In conclusion, although alfaxalone, alone or with diazepam administered intramuscularly produces a better quality of induction and sedation than ketamine alone or combined with diazepam, it is the union of dexmedetomidine to ketamine or alfaxalone which shortens decubitus time and improves sedation with greater muscle relaxation, generating with alfaxalone a deeper level of sedation with less excitement and increased cardiorespiratory stability. However, despite being a useful combination for reassurance swine, the injection volume of alfaxalone that is needed may limit its use as a preanesthetic agent for small pigs.

Keywords.- Alfaxalone, dexmedetomidine, ketamine, diazepam, pig, swine, premedication, sedation.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. ANTECEDENTES

La experimentación animal es un método científico mediante el cual se realizan ensayos con animales, tanto para el estudio de su genética y comportamiento, como para el diseño y obtención de vacunas, o el desarrollo de nuevos métodos de diagnóstico y tratamiento de diferentes patologías en beneficio de la especie humana. Las hipótesis planteadas en estudios humanos se pueden probar directamente en estudios animales y los resultados obtenidos en estudios *in vitro* se pueden probar en estudios animales para evaluar su eficacia.

Una de las ventajas de este método es la posibilidad de elección de especie, tiempo y método de estudio más adecuado en función de la investigación que se lleve a cabo, utilizando un número apropiado de animales como para efectuar un análisis estadístico y completar los estudios en un corto período de tiempo. Además facilita el análisis del efecto de diferentes planteamientos experimentales en el animal, tanto vivo como muerto, así como la obtención de todo tipo de muestras (Vesselinovitch y Wissler 1979; Jokinen et al. 1985).

El conocimiento de la influencia negativa que pueden ejercer el dolor y estrés en los animales de laboratorio sobre los resultados de las investigaciones, junto a la conciencia y consideración hacia los animales, ha demostrado la necesidad de elegir especies que presenten, a un coste no muy elevado, unos buenos modelos experimentales con las características de normalización y control sanitario adecuadas marcadas en las directrices del bienestar de los animales de experimentación.

La especie porcina es quizás la que más se ha introducido en el campo de la experimentación, habiéndose instaurado como la especie de elección en muchos modelos experimentales actuales para la investigación y desarrollo de nuevos procedimientos terapéuticos y quirúrgicos, debido principalmente, a sus similitudes anatómicas y

fisiológicas y a su reactividad farmacológica con el hombre (Ratcliffe y Uginbuhl 1971; Reitman et al. 1982).

El auge de la investigación quirúrgica en la especie porcina necesita de un constante desarrollo y conocimiento de nuevas técnicas de inmovilización y fármacos anestésicos que se administran en esta especie. Sin embargo, y dado que no es posible hacer extensiva la administración de fármacos a la clínica veterinaria, son los centros de investigación los que presentan más avances en la utilización de nuevas técnicas anestésicas en esta especie. La utilización de un protocolo anestésico adecuado permite reducir la morbilidad, evitar interacciones con el procedimiento experimental, disminuir el grado de sufrimiento, optimizar el rendimiento, evitar complicaciones y garantizar la calidad de la investigación que se lleve a cabo, cumpliendo de esta forma con la filosofía del uso del animal de experimentación, expresada en la actual normativa europea y española vigentes (Directiva 2010/63/UE y RD 53/2013).

En el cerdo deben tenerse en cuenta varias consideraciones o inconvenientes importantes que pueden influir en la respuesta a los fármacos administrados: en primer lugar, un animal adulto es de difícil manejo a la hora de administrar un fármaco por vía intravenosa; a esta dificultad se añade la de encontrar vías venosas periféricas suficientemente grandes como para permitir la administración de grandes volúmenes de fluidos; y además, el cerdo es un animal con una capacidad termoreguladora muy limitada y que se estresa con facilidad.

La importancia de una adecuada técnica de inmovilización en la especie porcina, es por tanto mayor que en otras, e implica la necesidad de buscar una vía de inducción que nos permita no solo conseguir un mejor y más fácil manejo del animal, sino también reducir el estrés. La administración intramuscular constituye una vía cómoda y fácil de utilizar, y es en la práctica la más conveniente para dicho propósito, pudiendo administrar los fármacos bien

en la musculatura del cuello, bien en la región lumbar o femoral posterior, incluso a través de un prolongador que nos permita mantener una cierta distancia al animal. Las técnicas incluidas bajo el término “inmovilización farmacológica”, están indicadas en procedimientos menores así como en el manejo preanestésico, permitiendo reducir considerablemente la dosis de anestésico necesario, y con ello las alteraciones que éstos provocan sobre sus frágiles sistemas cardiovascular y respiratorio, y clásicamente incluyen sedantes-tranquilizantes, así como otros anestésicos utilizados a bajas dosis como la ketamina y los opiáceos.

Las butirofenonas, conocidas como neurolépticos y entre la que destaca la azaperona, y las fenotiacinas, cuyos representantes principales son la propionilpromacina y la acetilpromacina, son dos grupos farmacológicos que se utilizan con frecuencia en la especie porcina como drogas tranquilizantes, pero el grado de sedación que proporcionan es limitado, y por ello se recurre a mezclas de mayor potencia que permitan una manipulación del animal más cómoda (Kyle et al. 1979).

Las drogas más adecuadas para este fin son las arilciclohexaminas o fenciclidinas, también conocidas como ketaminas, y que incluyen la ketamina y la tiletamina, drogas disociativas que consiguen sus efectos interaccionando con receptores del grupo glutamato (NMDA) y que administradas intramuscularmente reducen significativamente el estrés del animal facilitando su manejo prequirúrgico, pero producen un estado cataléptico, caracterizado por rigidez muscular, salivación, midriasis y persistencia del reflejo palpebral y laríngeo (Lin 2007). Para reducir estos efectos secundarios se aconseja su administración combinada con otros fármacos, que mejoran el grado de relajación muscular y proporcionan analgesia. Las benzodiacepinas inducen hipnosis, sedación y relajación muscular, aunque proporcionan poca o ninguna analgesia. Su efecto tranquilizante-sedante en los animales de laboratorio, y en concreto en la especie porcina, a diferencia de lo que ocurre en el hombre,

es relativamente bajo, pero potencia el efecto de otros tranquilizantes administrados a dosis bajas para reducir sus efectos adversos, por lo que suelen utilizarse más como fármacos coadyuvantes de la ketamina para inducir la anestesia. La tranquilización con la combinación de ketamina/diacepam normalmente no permite la intubación endotraqueal, pero sí procedimientos quirúrgicos menores.

Se están empleando nuevos y potentes fármacos para la tranquilización y anestesia de la especie porcina, que ya han sido empleados en medicina humana y veterinaria, pero que por los motivos antes indicados, se carece de información de sus efectos en la especie porcina. Entre ellos se encuentran los agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 , que presentan buenos efectos en relación a la sedación, analgesia y relajación muscular que producen, y además tienen la ventaja de que pueden ser antagonizados. La combinación de estos agentes farmacológicos con la ketamina se ha popularizado y adoptado como combinación de elección para la inducción intramuscular en cerdos (Sakaguchi et al. 1995; Nussbaumer et al. 2008).

La dexmedetomidina es un agonista potente, eficaz y selectivo de los receptores adrenérgicos α_2 en el sistema nervioso central y periférico y es muy utilizado en cuidados intensivos y como coadyuvante en la inducción anestésica con ketamina en diferentes especies (Barletta et al. 2011; Ko et al. 2011).

La alfaxalona es un esteroide neuroactivo que al igual que otros anestésicos y sedantes como los barbitúricos y las benzodiazepinas, potencia la unión y modulación de los efectos inhibitorios del ácido γ -aminobutírico (GABA) sobre el receptor $GABA_A$ (Lan y Gee 1994), produciendo anestesia y relajación muscular. La alfadolona, otro derivado esteroideo con similar mecanismo de acción, ha sido disuelta y combinada con la alfaxona en una base de aceite de ricino tensioactivo que era conocido como CT 1341 (Sear 1996) con el fin de aumentar su solubilidad. Esta preparación (Saffan[®]) ha sido comercializada y utilizada para

la inducción y mantenimiento de muchas especies, no es acumulativa y su inyección no provoca irritación perivascular. Sin embargo, produce un descenso significativo de la presión arterial (Dyson et al. 1987) y depresión respiratoria (Hall et al. 2001) cuando se administra por vía intravenosa.

La administración intramuscular de esta combinación produce un excelente efecto sedante en cerdos, pero el volumen de dosis que es necesario para producir este grado de sedación óptimo, unido al elevado gasto asociado que esto conlleva, hacen que este uso quede excluido; sin embargo, un volumen de dosis mucho menor administrado por vía intravenosa produce un periodo corto de anestesia con una buena relajación muscular y mínimas alteraciones respiratorias (Cox 1975).

La inducción anestésica intravenosa con la nueva formulación de la alfaxalona, utilizando 2 α -hidroxipropil- β ciclodextrina como disolvente (Alfaxan[®]) (Brewster et al. 1989; Estes et al. 1990), ha sido probada con éxito en cerdos premedicados con azaperona, consiguiendo un grado de sedación y relajación muscular adecuado para permitir la maniobra de intubación endotraqueal (Keates 2003).

Su administración intramuscular, sola o en combinación con otros agentes anestésicos, ha sido investigada en diversas especies veterinarias, produciendo sedación y anestesia general con pocos efectos secundarios (Bertelsen y Saucer 2011; Grubb et al. 2013; Hansen et al. 2013; Herbert et al. 2013; Huynh et al. 2014; Tamura et al. 2015a).

1.2. AGONISTAS DE LOS RECEPTORES ADRENÉRGICOS α_2

1.2.1. Receptores adrenérgicos

La mayoría de las fibras postganglionares del sistema nervioso simpático son fibras noradrenérgicas, pues el neurotransmisor que liberan es la noradrenalina, que a nivel del sistema nervioso central (SNC) junto a la dopamina y la adrenalina se denominan

genéricamente catecolaminas endógenas, ya que poseen en su estructura el núcleo 3-4-dihidroxibenceno, conocido como catecol, y que es necesario para una potencia máxima de α y β (Adams 2001; Heideman 2003; Gnegy 2012). Podemos encontrar catecolaminas tanto en el SNC como en el periférico, y sus funciones no se limitan a la transmisión sináptica, sino que algunas de ellas pueden comportarse como hormonas (Soriano-Mas 2010).

Las catecolaminas son eslabones consecutivos en una cadena de reacciones enzimáticas en las que el producto de reacción se somete a una nueva modificación por parte de una enzima. Así pues, lo que diferencia a las neuronas dopaminérgicas, noradrenérgicas o adrenérgicas, es el número de enzimas que contienen, teniendo las primeras solamente Tirosinhidroxilasa (TH) y L-Aminoácido Aromático descarboxilasa (AADC), las noradrenérgicas además Dopamina- β -hidroxilasa (DBH), y las adrenérgicas Feniletanolamina N-metiltransferasa (FNMT).

Aunque la adrenalina puede funcionar como neurotransmisor, su papel en el funcionamiento del SNC queda en realidad completamente relegado por la acción de la noradrenalina, si bien utilizamos generalmente el término adrenérgico. Esta paradoja se debe a que la potente producción de adrenalina desde la médula de las glándulas suprarrenales como consecuencia de la activación simpática, tiene unas consecuencias generalizadas e iguales que las de la acción de la noradrenalina liberada por la neurona postsináptica de una vía autónoma.

La noradrenalina es por tanto la catecolamina que se utiliza como neurotransmisor en el SNC, y podemos decir que la masa más compacta y densa de neuronas adrenérgicas la constituye el Locus Ceruleus (LC), el cual está perfectamente identificado en el tronco cerebral (Aston-Jones y Cohen 2005; Lechin et al. 2005).

Los términos adrenérgicos y colinérgicos fueron acuñados por Henry Hallett Dale (1935), quien diferenció las fibras nerviosas adrenérgicas y colinérgicas y los propuso para

describir las neuronas que liberan acetilcolina y noradrenalina respectivamente, sugiriendo más tarde él mismo los términos colinoceptivas y adrenoceptivas para designar las uniones sobre las que actúan los respectivos transmisores. Sin embargo, está más generalizado el uso de los términos receptor adrenérgico y colinérgico.

Los receptores adrenérgicos son estructuras macromoleculares localizadas sobre o dentro de la superficie de la membrana de las células inervadas, y ciertas células no inervadas, por neuronas adrenérgicas, y cuya función es reconocer e interactuar con los mediadores adrenérgicos endógenos, adrenalina y noradrenalina (Adams 2001). Se encuentran distribuidos ampliamente por todo el organismo, localizándose en diferentes tejidos como el sistema nervioso central, células musculares lisas de vasos, riñones, hígado, corazón, etc.

Entre las acciones propias del sistema adrenérgico que interesan desde un punto de vista anestésico, se encuentran: la modulación de la consciencia a nivel cortical, el procesamiento de los estímulos sensitivos y la modulación de los requerimientos anestésicos (Mueller et al. 1975; Mason y Angel 1983).

1.2.1.1. Clasificación de los receptores adrenérgicos

Desde su descubrimiento hasta la actualidad estos receptores se han estudiado ampliamente al representar una población de gran importancia en el mantenimiento de la fisiología de los animales y del hombre.

La primera clasificación la realizó Ahlquist (1948), quien propuso la existencia de dos tipos básicos de adrenoreceptores, alfa y beta, basado en la potencia de las catecolaminas o agonistas adrenérgicos para producir efectos excitadores o inhibidores en los distintos tejidos: alfa, con efectos excitatorios y beta, con efectos inhibitorios, excepto en el corazón, donde los beta producen estimulación, y en el digestivo, donde los alfa inhiben.

Lands et al. (1967) compararon la potencia relativa de 15 aminas agonistas o simpaticomiméticas sobre la inducción de lipólisis, la estimulación cardíaca y la relajación de la musculatura lisa vascular y bronquial, identificando así los subtipos β_1 y β_2 adrenérgicos, cuya existencia ha sido demostrada años más tarde gracias al desarrollo de agentes antagonistas selectivos y mediante estudios de unión a ligandos (“radioligand binding studies”) (Minneman et al. 1979).

Posteriormente, durante los años 70 se comprobó que los receptores α presinápticos respondían de manera algo diferente a los fármacos que los receptores α usuales de las células efectoras (Dubocovich y Langer 1974; Starke et al. 1974), lo que condujo a una subclasificación basada en la supuesta localización anatómica y las funciones fisiológicas, proponiendo de este modo que los receptores de las células efectoras típicas fueran llamados como α_1 , mediadores de efectos vasoconstrictores, mientras que los receptores de las terminales nerviosas pre-sinápticas reguladores de la liberación de neurotransmisor fueran designados como α_2 (Langer 1974), presentes no solo en los elementos neuronales, sino también en algunos tipos de células no inervadas como los trombocitos, y compartiendo tejidos con el grupo α_1 como el músculo liso vascular, mediando la liberación del factor relajante derivado del endotelio que conduce a la vasodilatación.

En 1977, Berthelson y Pettinger observaron la presencia de receptores α_2 a nivel post sináptico en tejidos como el neuroendocrino, que eran similares a los receptores pre-sinápticos en términos de potencia frente a agentes agonistas y antagonistas, por lo que los incluyeron en la denominación de receptores alfa adrenérgicos, y sugirieron la división en al menos dos subtipos farmacológicamente diferentes de receptores adrenérgicos, α_1 y α_2 , clasificándose desde entonces en base a la afinidad relativa de los distintos agentes antagonistas por uno u otro tipo de receptor como criterio para su identificación (Starke 1981).

Existen estudios que afirman la correlación entre los mecanismos bioquímicos asociados a los subtipos de receptores alfa adrenérgicos (Wikberg 1979; Fain y García-Sainz 1980), principalmente en el caso de los α_2 (Bylund y U'Prichard 1983), y la respuesta farmacológica, apoyados de manera adicional por estudios de unión a ligando que evidenciaban la subdivisión α_1 y α_2 (Bylund 1985).

En la actualidad, cada uno de estos receptores está perfectamente diferenciado en base a los agentes antagonistas yohimbina y prazosín, siendo la primera un potente inhibidor de los receptores α_2 , y el segundo de los α_1 (Doze et al. 1989). Asimismo han sido diferenciados hasta el momento mediante clonación molecular nueve subtipos de receptores adrenérgicos: tres subtipos de receptores β -adrenérgicos (β_1 , β_2 y β_3), tres subtipos α_1 adrenérgicos (α_{1A} , α_{1B} , α_{1D}) y tres subtipos α_2 -adrenérgicos (α_{2A} , α_{2B} , α_{2C}) (Gnegy 2012).

1.2.1.2. Estructura y localización de los receptores adrenérgicos

Los adrenoreceptores están formados por 450-560 aminoácidos, con un peso molecular de 40-50 KDal (Soria et al. 1996). Se ha descrito que el adrenoreceptor contiene en su estructura siete segmentos o dominios transmembrana de 20 a 25 aminoácidos de longitud en una configuración de α -hélice, que da lugar a la existencia de tres espirales intracelulares que contienen aminoácidos hidrofóbicos, y tres espirales extracelulares que contienen aminoácidos hidrofílicos, de longitudes variables (Arias-Montaña 1994; Adams 2001), y que contienen varios residuos de prolina y glicina, permitiendo el doblamiento de la proteína y contribuyendo así a la formación del sitio de unión a ligandos, situado dentro de la bicapa lipídica de la membrana celular (Taylor 1990), (Figura 1.1). Estudios realizados utilizando al receptor adrenérgico β como modelo, han permitido demostrar que el dominio de mayor relevancia para el acople del receptor a la proteína G se localiza en el asa intracelular (Adams 2001). Además, el dominio transmembrana III de los receptores adrenérgicos

contiene un residuo de aspartato localizado en la posición 113, que es determinante para la afinidad del receptor por las catecolaminas (Strader et al. 1989).

Los receptores alfa y beta adrenérgicos se sitúan en las células a nivel de la membrana plasmática. Por su superficie extracelular se unen con el neurotransmisor correspondiente, y por la cara interna se acoplan a la proteína G, que dependiendo del tipo de receptor puede ser estimulante o inhibidora. Los receptores β_1 , β_2 y α_2 son glucoproteínas con una estructura semejante entre sí, y similar a la de los receptores muscarínicos, dopaminérgicos, serotoninérgicos, opiáceos y los de la adenosina (Hayashi y Maze 1993), mientras que los α_1 son estructuralmente diferentes. El adrenoceptor α_2 pertenece a un grupo de receptores de membrana conocidos como receptores acoplados a la proteína G (Gilman 1987).

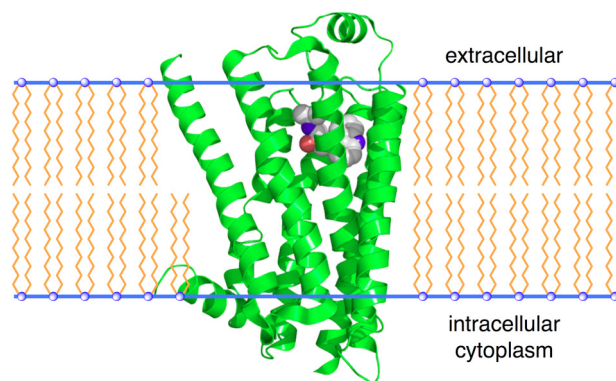


Figura 1.1. Estructura de los receptores adrenérgicos (Cherezov et al. 2007; Rosenbaum et al. 2007).

Las proteínas G son moléculas reguladoras intermedias heterotriméricas, constituidas por subunidades α , β , y γ , que al interactuar con el receptor produce la disociación de las subunidades de la proteína G en α , que confiere especificidad entre receptor y efectores y capacidad para unirse a nucleótidos de guanina y $\beta\gamma$, capaces de estimular directamente segundos mensajeros y de anclar cinasas reguladoras en la membrana celular, lo que

provoca un aumento de la fosforilación de receptores de membrana (Shafer y Schwinn 2005).

Las proteínas G que usualmente se encuentran acopladas a las diferentes familias de adrenoreceptores son: la proteína G estimuladora o $G_{s\alpha}$ (adrenoreceptores β), la proteína G inhibidora o $G_{i\alpha}$, (adrenoreceptores α_2) y, en el caso de los adrenoreceptores α_1 la proteína G acoplada a la fosfolipasa C o $G_{q\alpha}$. No obstante, cabe señalar que un subtipo de receptor puede estar acoplado a dos o más sistemas efectores a través de diferentes proteínas G (Soria et al. 1996).

Para que la transducción de un mensaje llevado a cabo por un agonista α_2 para producir sus efectos farmacológicos definitivos sea posible, es necesario el acoplamiento de al menos tres estructuras moleculares: un receptor adrenérgico α_2 post-sináptico, un nucleótido de guanina unido a una proteína reguladora (proteína G), y un mecanismo efector o segundo mensajero, que son en su mayoría alteraciones en el voltaje transmembrana y en la excitabilidad neuronal, rápidos fenómenos bioquímicos cuyos principios de acción son importantes conocer, pues las alteraciones en el acoplamiento a éstos pueden alterar la efectividad del fármaco.

Así pues, cuando un agonista adrenérgico α_2 se une a su receptor, induce cambios conformacionales en el propio receptor y en la proteína G acoplada al mismo, la cual permite una rápida estimulación de los sistemas efectores o segundos mensajeros permitiendo, en presencia de iones Mg^{2+} , que la subunidad α de la proteína G intercambie guanosín trifosfato (GTP) por el guanosín difosfato (GDP) que en el estado basal se encuentra unido a la subunidad.

El complejo α -GTP se disocia entonces del complejo $\beta\gamma$ y de la membrana celular y actúa sobre el sistema efector, que en el caso de los adrenoreceptores α_2 corresponde a la adenilciclase, inhibiendo su actividad y disminuyendo los niveles de AMP cíclico (AMPC)

en el interior de la célula (Correa-Sales et al. 1992). La actividad de la enzima GTPasa intrínseca a las subunidades α cierra el ciclo al hidrolizar el GTP a GDP (que permanece unido a la subunidad), permitiendo así la reasociación de α -GDP a los complejos $\beta\gamma$ que se encuentren libres.

1.2.2. Receptores adrenérgicos α_2

1.2.2.1. Localización y funciones de los receptores adrenérgicos α_2

Estos receptores intervienen en la mediación de múltiples funciones fisiológicas en el sistema nervioso central y en los tejidos periféricos, identificándose en los sistemas cardiovascular, respiratorio, renal, endocrino, gastrointestinal y hematológico (Adams 2001; Lemke 2007) (Tabla 1.1).

En el sistema cardiovascular se encuentran localizados postsinápticamente, junto con los α_1 , en las células musculares lisas de vasos sanguíneos, tanto venosos como arteriales, mediando acciones vasoconstrictoras; sin embargo, los receptores α_2 , contrariamente a los β y α_1 , están escasamente implicados en la regulación de la contractilidad miocárdica, estando localizados de forma generalizada en las arterias coronarias y en los nervios cardiacos previos a la unión neuromuscular, pero no en el miocardio (Schmeling y Bloor 1993).

También se encuentran en diversos órganos y tejidos como el hígado, en el que inducen la glucogenolisis y la gluconeogénesis; el páncreas, donde inhiben la secreción de insulina por las células beta pancreáticas; el bazo, provocando la contracción de la cápsula; los riñones, produciendo un aumento de la diuresis por la inhibición de la hormona antidiurética (ADH), el antagonismo de la acción de la ADH en los túbulos renales y el aumento de la tasa de filtración glomerular, también inhiben la liberación de renina en las células yuxtaglomerulares; el sistema gastrointestinal, disminuyendo la producción de saliva, participando en la modulación de la liberación de ácido clorhídrico en el estómago y

modulando la secreción de iones y agua en el intestino grueso; el tejido adiposo, inhibiendo la lipólisis; la adenohipófisis, donde estimulan la liberación de la hormona del crecimiento; el ojo, reduciendo la presión intraocular; y las plaquetas, induciendo la agregación plaquetaria (Hayashi y Maze 1993).

Tabla 1.1. Funciones fisiológicas asociadas con los receptores adrenérgicos α_2 a nivel periférico.

LOCALIZACIÓN	FUNCIÓN
Tejido adiposo	Inhibición de la lipólisis
Sistema endocrino:	
-Adenohipófisis	Estimulación de la hormona
-Riñón	Inhibición de la liberación de renina, incremento de la filtración glomerular, y de la secreción de agua y sodio
-Páncreas	Inhibición de la liberación de insulina
Ojo	Reducción presión ocular
Plaquetas	Agregación plaquetaria
Terminaciones nerviosas	Inhibición de la transmisión
Ganglios simpáticos	Hiperpolarización
Músculo liso, incluido el vascular	Contracción
Aparato gastrointestinal	Disminución de la salivación, de las secreciones y de la motilidad intestinal

En el SNC se encuentran en ganglios autonómicos tanto pre como postsinápticamente. Los receptores adrenérgicos α_2 situados pre-sinápticamente inhiben la liberación neuronal de diversos neurotransmisores, entre los que se encuentran la noradrenalina, la acetilcolina, la serotonina, la dopamina y otros aminoácidos excitadores (Dubocovich 1984). Los receptores localizados post-sinápticamente inhiben la actividad simpática cuando son estimulados. Tanto los receptores pre- como post-sinápticos están íntimamente involucrados en la modulación del sistema nervioso simpático, en la regulación de funciones cardiovasculares y endocrinas, así como en las emociones, el conocimiento, la vigilia y la nocicepción (Tabla 1.2).

Tabla 1.2. Funciones fisiológicas asociadas a los receptores α_2 adrenérgicos en el SNC.

LOCALIZACIÓN	FUNCIÓN
Sistema nervioso presináptico	Inhibición de la liberación de aminas biógenas: noradrenalina, serotonina, acetilcolina, dopamina y sustancia P
Sistema nervioso pre y post sináptico en cerebro y médula espinal	Hipotensión, bradicardia, sedación, analgesia, midriasis
Hipotálamo	Incremento de la secreción de la hormona del crecimiento
Ganglios simpáticos	Hiperpolarización
Autorreceptores somato dendríticos centrales	Inhibición del impulso

1.2.2.2. Subdivisión de los receptores adrenérgicos α_2

Gracias a las técnicas de manipulación genética ha sido posible la localización y el estudio de los subtipos de receptores adrenérgicos α_2 en el sistema nervioso, cada uno de los cuales puede ser el responsable de algunas de las acciones atribuidas a los agentes agonistas α_2 . En el SNC, el ARN mensajero (ARMm) para los receptores α_{2A} se encuentra en todo el cerebro, especialmente en el LC; el ARMm para los α_{2B} ha sido encontrado únicamente en el tálamo; y el ARNm para los α_{2C} se encuentra mayormente distribuido y expresado en los ganglios basales (MacDonald y Scheinin, 1995).

Los receptores alfa adrenérgicos del subtipo α_{2A} están localizados presinápticamente en el neocórtex humano (Feuerstein et al. 2000). También pertenecen a este subtipo la mayoría de los receptores adrenérgicos α_2 que se encuentran en la médula espinal humana (Fürst 1999).

En el perro, los receptores alfa adrenérgicos que se encuentran en el tronco encefálico pertenecen al subtipo α_{2A} (Schwartz et al. 1992). Estos receptores son aparentemente los moduladores de la transmisión noradrenérgica en el cerebro y son los responsables de los efectos sedantes-hipnóticos, de la analgesia espinal y supraespinal, de la capacidad de reducción de los requerimientos anestésicos (Lakhlani et al. 1997) y de la

hipotensión mediada a nivel central (MacMillan et al. 1996), que se obtienen tras la administración de los agentes agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 . También se le atribuye al subtipo α_{2A} el efecto antiepiléptico asociado a un incremento de la actividad noradrenérgica (Janumpalli et al. 1998).

Por otro lado, los receptores del subtipo α_{2B} se encuentran en las células musculares lisas de vasos sanguíneos, siendo los responsables de la acción hipertensora transitoria que se produce cuando se administra un fármaco agonista a dosis altas (Link et al. 1996). Se ha sugerido incluso que el subtipo α_{2B} está implicado en el desarrollo de los estados hipertensivos esenciales en la especie humana. También se cree que este subtipo es el mediador de la hiperalgesia mediada por la noradrenalina (Khasar et al. 1995).

Tabla 1.3. Localización y efectos fisiológicos de los subtipos de receptores adrenérgicos α_2 en el sistema nervioso central y periférico.

RECEPTOR	LOCALIZACIÓN	EFECTOS
α_{2A}	Hipocampo, LC, corteza cerebral, corazón, páncreas, plaquetas, intestino delgado, tejido adiposo	Sedación e hipnosis, efecto antiepiléptico, reducción de los requerimientos anestésicos, analgesia espinal y supraespinal Hipotensión y bradicardia mediada a nivel central Inhibición de la secreción de insulina e incremento de la secreción de glucagón Agregación plaquetaria, disminución de la motilidad intestinal y de la lipólisis
α_{2B}	Tálamo, ganglios de la región dorsal de la médula espinal, endotelio vascular, hígado	Vasoconstricción e hipertensión transitoria al administrar el agonista α_2 y bradicardia refleja Estado hipertensivo esencial humano
α_{2C}	Hipocampo, ganglios de la región dorsal de la médula espinal, bulbo olfatorio, endotelio vascular, pulmón, corazón	Antinocicepción espinal. Inhibición actividad sensorial, control motor y actividad emocional del SNC Hipotermia y modulación de la actividad dopaminérgica

Por último, los receptores α_{2C} son los responsables, junto con los α_{2A} , de la capacidad antinociceptiva espinal que poseen los agentes agonistas α_2 adrenérgicos, al estar localizados principalmente a nivel post-sináptico en neuronas del asta dorsal de la médula espinal (Fairbanks et al. 2002). Además, el subtipo α_{2C} tiene un papel inhibitorio en el procesamiento de la información sensorial, así como en el control motor y de las actividades relacionadas con las emociones en el SNC (Scheinin et al. 2001). También se ha sugerido la participación de este subtipo en la función cardiovascular (MacDonald et al. 1997) y en la hipotermia inducida por algunos agentes agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 como la dexmedetomidina (Sallinen et al. 1997) (Tabla 1.3).

Se han encontrado además tres subtipos de receptores adrenérgicos α_2 genética o molecularmente diferenciados en la especie humana, que presentan una clara correlación con los tres subtipos farmacológicos (Bylund et al. 1992):

- α_{2C10} , localizado en el cromosoma humano 10, que se corresponde con el α_{2A} .
- α_{2C2} , en el cromosoma humano 2, que se corresponde con el α_{2B} .
- α_{2C4} , en el cromosoma humano 4, que se corresponde con el α_{2C} .

1.2.3. Agonistas de los receptores adrenérgicos α_2

Las sustancias amínicas que causan respuestas fisiológicas similares a las provocadas por los mediadores adrenérgicos endógenos, adrenalina y noradrenalina, se conocen como fármacos adrenérgicos (Gross 2001). Después de la unión con el receptor, estos compuestos químicos exógenos pueden tener actividades diferentes:

- Agonistas totales: aquellos que inducen una activación máxima en la respuesta, es decir, tienen alta afinidad por el receptor y alta actividad intrínseca (eficacia).
- Agonistas totales que son capaces de inhibir las respuestas presentando alta afinidad por el receptor pero sin eficacia.

- Agonistas parciales, que tienen relativa afinidad por el receptor, pero tienen relativa eficacia.

De acuerdo a la clasificación de los subtipos de sus receptores y sus respectivas respuestas tisulares, los perfiles farmacológicos de los agonistas adrenérgicos α_2 se dividen también en tres grupos en función de su estructura química: las feniletilaminas (ej. ametilnoradrenalina), los imidazoles (ej. clonidina, xilacina, detomidina, medetomidina, romifidina, dexmedetomidina) y las oxalozepinas (ej. azepexol).

1.2.3.1. Dexmedetomidina

El clorhidrato de dexmedetomidina pertenece al grupo de los derivados imidazólicos, es de carácter lipofílico, su nombre químico es el (+)-4-(S)-[1-(2,3-dimetilfenil)etil]-1H-imidazol monoclóhidrato, su fórmula molecular: $C_{13}H_{16}N_2HCl$, y su peso molecular 236,7 gr/mol. Es el estereoisómero dextrógiro o isómero de la medetomidina, la cual es una mezcla racémica a partes iguales de los dos enantiómeros ópticos: d-medetomidina y l-medetomidina (Figura 1.2). Se ha comprobado que la dexmedetomidina es la única responsable de los efectos sedantes y analgésicos que se le atribuyen a la medetomidina. El levo-isómero posee un efecto antagónico de los receptores adrenérgicos α_2 a dosis muy elevadas (ej. 10 mg/kg) (MacDonald et al. 1991).

Se comercializa en forma liofilizada, con un punto de fusión de 157°C, soluble en agua, cloroformo, etanol, metanol y ácido clorhídrico 0,1 molar, y causa precipitación en presencia de hidróxido sódico 0,1 molar. Cuando el fármaco es envasado en ampollas de cristal (Precedex[®]: concentración de 100 μ g/ml en suero salino 0,9%) y conservado a temperatura ambiente (25°C) no se ha observado que se produzca una disminución significativa de su actividad, ni un incremento de su degradación durante un periodo de

tiempo prolongado (unos 5 años), ni tampoco cambios significativos en el principio activo (3 años a 5, 25 ó 35°C) (Mato et al. 2002).

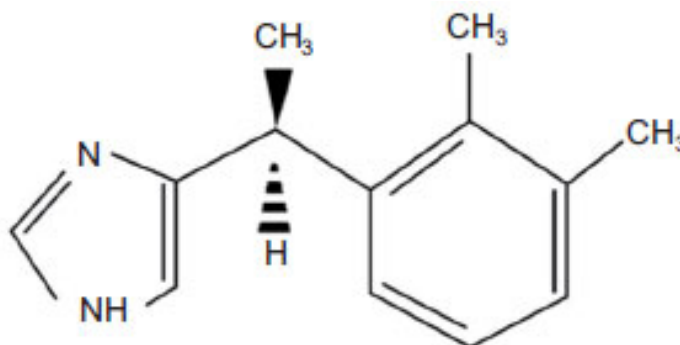


Figura 1.2. Estructura química de la dexmedetomidina.

La dexmedetomidina es un agente agonista muy potente y altamente selectivo de los receptores adrenérgicos α_2 , 1600 veces mayor para el receptor α_2 que para el receptor α_1 (Reves et al. 2005), que fue desarrollado y aprobado definitivamente por la FDA para su utilización en medicina humana en los Estados Unidos en 1999. Pronto despertó un gran interés por sus efectos sedantes, ansiolíticos y analgésicos, introduciéndose inmediatamente en la práctica clínica, especialmente en la unidad de cuidados intensivos, pues permite mantener a los pacientes intubados hasta 24 horas y que puedan despertarse fácilmente y cooperar, y en poco tiempo se extendió a más días en pacientes no intubados y en anestesiología, como adyuvante en anestesia general y regional (Gibbs y Summers 2005; Reyes et al. 2005).

Además, atenúa la respuesta hemodinámica de los pacientes durante el proceso de intubación endotraqueal y cuando se produce el estímulo quirúrgico, proporcionando estabilidad cardiovascular durante la cirugía (Scheinin et al. 1992).

También se ha visto que es capaz de disminuir los requerimientos de otros fármacos anestésicos como los barbitúricos, los opiáceos (Scheinin et al. 1992), el propofol (Peden et

al. 2001), la ketamina (Joo et al. 2000), el midazolam (Venn et al. 1999) y los agentes inhalatorios como el halotano (Segal et al. 1989) y el isoflurano (Savola et al. 1991), tanto en los animales como en el hombre.

La dexmedetomidina, sin embargo, da lugar a los efectos característicos de los agentes agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 , como por ejemplo sedación e hipotermia, e induce cambios neuroquímicos en el metabolismo cerebral de la norepinefrina y serotonina, a dosis tan bajas como 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en la rata (MacDonald et al. 1991).

1.2.3.1.1. Mecanismo de acción del efecto sedante y analgésico

Mientras que en el LC predomina la noradrenalina, en sus procesos aferentes hay axones terminales que contienen aminoácidos excitatorios e inhibitorios, monoaminas y neuropéptidos que se ha demostrado que ejercen efectos fisiológicos diferentes sobre la actividad de descarga del LC. La transmisión inhibitoria del LC tiene implicaciones sobre la liberación de noradrenalina en diversos sitios postsinápticos, donde intervenimos al utilizar fármacos como la dexmedetomidina, que con su efecto agonista α_2 inhibe las descargas de este núcleo (Pinos et al. 2004; Kishi et al. 2006), produciendo el efecto sedante. Sin embargo, Rabin et al. (1996) encontraron que el efecto hipnótico de este fármaco también está asociado a una estimulación de los receptores para la serotonina (5-HT₂) en el hipocampo y en el LC, y como consecuencia, a una disminución en la neurotransmisión serotoninérgica.

Por otro lado, Nelson et al. (2003) propusieron que la sedación producida por la dexmedetomidina podría ser consecuencia de la inducción de una fase endógena del sueño (fase de no-movimiento ocular rápido), mediada por la inhibición del LC, lo que desinhibe el disparo del núcleo preóptico ventro-lateral, incrementándose la liberación del neurotransmisor GABA y galanina en sus terminales, que va a inhibir todavía más el LC y el

núcleo tuberomamilar, lo que causa una disminución en la liberación de histamina, que conlleva a una respuesta hipnótica.

El mecanismo mediante el cual la dexmedetomidina produce su efecto antinociceptivo es por una actuación directa sobre el LC, pero también existe una participación de los receptores α_2 de la médula espinal, que son activados de manera descendente por proyecciones a partir del LC (Guo et al. 1996). Para demostrarlo, estos autores inyectaban dexmedetomidina en el LC y, posteriormente, bloqueaban el efecto analgésico conseguido con un agente antagonista específico de los receptores adrenérgicos α_2 (atipamezol, toxina pertussis o L659,066), inyectándolo tanto en el LC como por vía intratecal (Guo et al. 1996). Es posible que, al menos una parte del efecto analgésico producido por este fármaco, se deba a una modulación pre-sináptica de las fibras aferentes primarias que transmiten los mensajes nociceptivos hacia la médula espinal (Fürst 1999). Se han encontrado una gran densidad de receptores adrenérgicos α_2 en la sustancia gelatinosa, que se localiza en el asta dorsal de la medula espinal, siendo ésta, posiblemente, la principal localización donde se modulan las acciones analgésicas de la dexmedetomidina y de otros agentes agonistas de estos receptores (Fürst 1999).

1.2.3.1.2. Farmacocinética

Se han realizado estudios farmacocinéticos de la dexmedetomidina administrada por vía intravenosa con diferentes regímenes de administración, en diversas especies animales y en el hombre.

Estudios realizados en voluntarios sanos con dexmedetomidina administrada por vía intravenosa a dosis de 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y de 0,1 ng/ml , determinaron que el volumen de distribución es relativamente amplio y que su perfil farmacocinético podía describirse como un modelo dependiente de la concentración no-lineal de tipo tricompartmental comparable al del

fentanilo (Dyck y Shafer 1993), presuntamente debido a los efectos cardiovasculares que produce, por lo que es capaz de alterar su propia farmacocinética y la de otros fármacos administrados simultáneamente (Reves et al. 2005). El aclaramiento sistémico es de aproximadamente 0,5 litros/min, lo que constituye la mitad del flujo sanguíneo hepático (parámetro que la asemeja al fentanilo) (Dyck et al. 1993), y su vida media oscila entre las 2-3 horas (Reves et al. 2005); además posee una mayor liposolubilidad que el resto de fármacos de su grupo, lo que la permite atravesar la barrera hematoencefálica y ejercer sus efectos centrales. También observaron que su administración intramuscular es rápida y genera una mayor estabilidad hemodinámica en los primeros 15 minutos que su administración en infusión continua hasta alcanzar su pico de acción, obteniendo un pico plasmático de $0,8 \pm 0,27$ ng/ml, con una biodisponibilidad del 70-80 % por esta vía (Dyck et al. 1993).

La dexmedetomidina se metaboliza en el hígado, la mayor parte de la misma es excretada por orina, y tan solo un pequeño porcentaje es eliminada por las heces. Sufre conjugación (41%), N-metilación (21%), o hidroxilación seguida de conjugación. El 94% de la dexmedetomidina está unida a proteínas, y la relación de la concentración en la sangre y en el plasma es de 0,66 (Reves et al. 2005).

De Wolf et al. (2001), realizaron un estudio en pacientes con daño renal grave y observaron que existían unas diferencias muy pequeñas en los tiempos de eliminación de la dexmedetomidina en comparación con pacientes sanos, y que los parámetros farmacocinéticos no se alteran por la insuficiencia renal, ni por la edad o el peso, pero sí por la altura, como ya apostaron Dyck et al. en su estudio con voluntarios sanos en 1993.

En el campo de la medicina veterinaria, Bol et al. (1997) determinaron las relaciones farmacocinéticas-farmacodinámicas de los efectos cardiovasculares, hipnóticos, ventilatorios y electroencefalográficos en la rata. Para ello utilizaron dos regímenes

diferentes de administración, un grupo con una infusión intravenosa constante durante 10 min de 3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ y otro con 5 infusiones consecutivas, de 10 min de duración cada una, de dosis incrementales de dexmedetomidina de 0,1, 0,25, 0,5, 1,0 y 2,0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos por estos autores, así como el porcentaje de dexmedetomidina no unida a proteínas plasmáticas, fueron muy similares en ambos grupos de ratas, no viéndose afectados por el régimen de administración utilizado a pesar de los cambios cardiovasculares que se producían. La concentración plasmática máxima de dexmedetomidina, tras una infusión continua de 10 min a 3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, era alcanzada muy rápidamente y prácticamente a los 2 min después de iniciada la infusión dichos niveles plasmáticos eran máximos.

Las características farmacocinéticas de la dexmedetomidina en la rata, según el estudio de Bol et al. (1997), utilizando un modelo bi-compartimental, son:

- Aclaramiento: 60 ml/kg/min
- Volumen de distribución inicial: 0,4 l/kg
- Volumen de distribución en estado estable: 3,3 l/kg
- Aclaramiento intercompartimental: 110 ml/kg/min
- Vida media de distribución: 1,7 min
- Vida media terminal: 57 min
- Fracción no-unida a proteínas plasmáticas: $15,9 \pm 0,7\%$

Además, en este estudio se descartó un posible desarrollo de tolerancia aguda a los efectos derivados de la dexmedetomidina y se comprobó que había ausencia de formación de metabolitos farmacológicamente activos.

1.2.3.1.3. Farmacodinamia

La dexmedetomidina es un fármaco muy potente, capaz de provocar profundas alteraciones fisiológicas a concentraciones tan bajas como 1,0 ng/ml (Dyck y Shafer 1993). Las acciones farmacológicas a las que da lugar son principalmente de tipo hemodinámico, sedante/hipnótico, analgésico, simpaticolítico y también, pero escasamente, respiratorio, muy similares en la rata y en el hombre (Bol et al. 1999).

1.2.3.1.3.1. Efectos sobre el SNC

Bol et al. (1997) utilizaron el encefalograma y la pérdida de consciencia como instrumentos para medir el grado de depresión obtenido por la dexmedetomidina, y observaron que a medida que aumenta la concentración plasmática de la dexmedetomidina se produce una progresiva disminución de la frecuencia de las señales del electroencefalograma (EEG) y un aumento de su amplitud, que en ocasiones se superpone con los picos característicos del sueño, aunque dicha medición tiene un valor limitado para predecir los niveles más profundos de analgesia y anestesia obtenidos a concentraciones plasmáticas altas de dexmedetomidina.

Se ha observado que el establecimiento del efecto depresor del SNC ocurre de forma relativamente lenta tanto en las ratas como en el hombre, es decir, este fármaco no posee la capacidad de inducir una hipnosis de manera rápida, por lo tanto, no se puede incluir dentro del grupo de los agentes inductores de la anestesia, como pueden ser los barbitúricos o el propofol (Bol et al. 1997).

Los efectos sedantes/hipnóticos y el bloqueo simpático-adrenal se obtienen a concentraciones plasmáticas de dexmedetomidina por debajo de 2,5 ng/ml, sin embargo, para conseguir el efecto analgésico y la pérdida del reflejo corneal se requieren unas concentraciones mayores, de $5,49 \pm 1,34$ ng/ml y $24,5 \pm 12,3$ ng/ml respectivamente (Bol et

al. 1999). Además, se ha observado que el efecto analgésico no está claramente relacionado con la dosis en un rango de 0,25-1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, lo cual indica la existencia de un posible efecto techo en la acción antinociceptiva de la dexmedetomidina (Jaakola et al. 1991).

En modelos animales de isquemia cerebral incompleta y reperfusión, la dexmedetomidina reduce la necrosis cerebral y mejora la evolución neurológica, disminuyendo el daño de las neuronas corticales en presencia de anestésicos volátiles (Karlsson et al. 1990; Zornow et al. 1990). Hasta el momento no se ha descrito la aparición de convulsiones en medicina humana tras su administración, aunque en un modelo de convulsiones en ratas, la dexmedetomidina mostró un efecto favorecedor de las convulsiones, que concuerda con hallazgos previos de que la inhibición de la transmisión noradrenérgica central facilita la aparición de convulsiones (Mirski et al. 1994), hecho contrario sin embargo al efecto anticonvulsionante observado en ratas después de convulsiones inducidas por ácido caínico.

Dado que en medicina humana la dexmedetomidina sólo ha sido aprobada para la sedación corta, la tolerancia, la dependencia y la adicción no sólo no constituyen un problema, sino que ha sido utilizada para la desintoxicación rápida de los opioides, la privación de cocaína y la tolerancia iatrogénica, tras sedación prolongada con benzodiazepinas u opioides (Maccioli 2003).

Sin embargo en animales hay datos en ratas que indican que posiblemente exista una tolerancia cruzada entre receptores opioides, pues aquellas que presentaban tolerancia a la morfina también mostraron una menor eficacia a los efectos hipnóticos y analgésicos de la dexmedetomidina, recuperándose el efecto hipnótico de la dexmedetomidina y con él su efecto analgésico a medida que se mejoraba la tolerancia a los opioides (Hayashi et al. 1996).

1.2.3.1.3.2. Efectos cardiovasculares

Ya ha sido relatada una respuesta bifásica dependiente de la dosis de la dexmedetomidina en humanos y ratas (Dyck y Shafer 1993; Bol et al. 1997) sobre la presión arterial en términos de presión arterial media (PAM), el cual es más acusado tras su administración intravenosa debido a los altos niveles plasmáticos alcanzados inicialmente, produciéndose en un principio un aumento de la PAM, seguido de una reducción de la misma por debajo de los valores basales a medida que las concentraciones plasmáticas de dexmedetomidina disminuyen. Este efecto sobre la presión arterial se debe a que a concentraciones plasmáticas elevadas, la dexmedetomidina se une a los receptores adrenérgicos α_{2B} localizados en los lechos vasculares periféricos, produciendo vasoconstricción y, por tanto, aumentando la PAM (van Zwieten y Chalmers 1994).

En cuanto a los efectos sobre la frecuencia cardiaca, inicialmente se produce una intensa bradicardia, que puede ser una respuesta refleja indirecta a la hipertensión o bien un efecto derivado directamente de la unión a los receptores adrenérgicos α_2 y a los receptores imidazólicos centrales (Schmeling y Bloor 1993), seguida de una bradicardia más moderada después de un cierto tiempo post-administración. A concentraciones bajas, sin embargo, dominan los efectos simpaticolíticos centrales derivados de la unión de la dexmedetomidina a los receptores α_2 localizados en centros vasomotores del tronco encefálico, lo que produce un descenso de la PAM y de la frecuencia cardiaca (Van Zwieten y Chalmers 1994). Estos efectos también puede ser debidos, en parte, a la unión adicional de la dexmedetomidina a receptores imidazólicos noradrenérgicos centrales (Bol et al. 1997) y a la disminución de la concentración de noradrenalina, lo que conlleva a una menor estimulación de los receptores adrenérgicos α_1 localizados en los vasos y de los receptores β_1 localizados en el corazón (van Zwieten 1988).

Como consecuencia de estos efectos cardiovasculares producidos por la dexmedetomidina se reduce en gran medida el gasto cardíaco y, por tanto, el flujo sanguíneo cerebral. Sin embargo, se ha observado que la repercusión de la disminución del gasto cardíaco sobre el aclaramiento plasmático de este fármaco no es clínicamente relevante (Dutta et al. 2000).

1.2.3.1.3.3. Efectos respiratorios

La dexmedetomidina ejerce un efecto bifásico sobre la ventilación, disminuyendo a dosis bajas e incrementando a dosis altas la ventilación de descanso. Sin embargo se considera que estos efectos sobre la ventilación son leves, ofreciendo un alto nivel de seguridad (Venn et al. 2000).

Además se ha visto que la dexmedetomidina no potencia la depresión respiratoria inducida por los agonistas puros de los receptores opiáceos, como el fentanilo (Fürst y Weinger 1990) y que en comparación con infusiones de opiáceos, benzodiacepinas o el propofol, la dexmedetomidina puede ser infundida con seguridad a través de la desentubación traqueal (Panzer et al. 2009).

1.2.3.1.3.4. Otros efectos

Todos los agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 inhiben el flujo simpático y disminuyen los niveles plasmáticos de catecolaminas circulantes de manera dosis dependiente, reduciendo la concentración plasmática de noradrenalina hasta en un 92% tras su administración en voluntarios sanos (Kallio et al. 1989).

Belleville et al. (1992) demostraron mediante un estudio en voluntarios sanos que la dexmedetomidina presenta un efecto bifásico sobre el consumo de oxígeno, produciendo un incremento inicial de hasta un 16%, seguido de un pronunciado descenso, que se prolonga

incluso hasta una hora después de acabada la infusión; además, al igual que otros fármacos agonistas adrenérgicos α_2 , incrementa los niveles de glucemia de forma dosis dependiente inicialmente tras su administración, que vuelve a sus niveles basales cuando termina la administración.

Se sabe que la dexmedetomidina inhibe la liberación de insulina al actuar sobre las células β de los islotes pancreáticos, disminuye la liberación de hormonas corticotropas (ACTH) inducidas por estrés y estimula la liberación de la hormona somatotropina (STH) (Venn et al. 1999).

La dexmedetomidina provoca un descenso de la presión intraocular, por ello, se ha recomendado su utilización en cirugía oftálmica (Jaakola et al. 1992; Aanta y Schinin 1993); ejerce una acción diurética y natriurética que inhibe la acción de la vasopresina en el conducto colector posiblemente por medio de los receptores α_{2A} (Ruskoaho y Leppaluoto 1989); evita el temblor, al igual que la clonidina (Talke et al. 1997; Easley et al. 2007); y se ha observado que ejerce una acción protectora sobre el sistema nervioso en algunas especies animales (Hoffman et al. 1991) y sobre la función renal, aumentando el flujo sanguíneo renal y la filtración glomerular reduciendo así la liberación de noradrenalina (Toada et al. 2001).

En relación con el sistema gastrointestinal, la dexmedetomidina inhibe el vaciado gástrico, el tránsito gastrointestinal y es un antisialogogo, causando sequedad de boca (Asai et al. 1997; Penttilä et al. 2004).

Se ha visto que la dexmedetomidina es capaz de reducir la rigidez muscular inducida por los agentes opiáceos agonistas puros en ratas (Weinger et al. 1989), actuando a nivel de los receptores adrenérgicos α_2 centrales y no a nivel de la unión neuromuscular (Weinger et al. 1995).

También se ha comprobado que la dexmedetomidina aumenta el umbral de producción de arritmias cardíacas inducidas por la adrenalina en perros anestesiados con halotano, por lo que se le puede considerar como un fármaco antiarritmogénico en estas condiciones (Hayashi et al. 1991). Este efecto protector frente a arritmias cardíacas inducidas por halotano está mediado en gran medida por el nervio vago, ya que en perros vagotomizados o atropinizados, la administración de dexmedetomidina no previene su aparición (Kamibayashi et al. 1995).

Este fármaco, al igual que otros agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 , disminuye la capacidad de autorregulación de la temperatura corporal mediante la reducción de la termogénesis metabólica, que se produce principalmente en el tejido adiposo marrón, el cual se encuentra inervado por el sistema nervioso simpático (Vainio y Bloor 1994).

1.2.3.1.3.5. Efectos adversos

Los efectos adversos más importante de la dexmedetomidina son la intensa bradicardia y la hipotensión que producen (Toada et al. 2001), por lo que el sistema cardiovascular debe ser monitorizado muy de cerca. Es poco probable poder separar los efectos hemodinámicos no deseables de los efectos sedantes y analgésicos si deseables de la dexmedetomidina, puesto que la bradicardia se produce a concentraciones plasmáticas muy bajas (Bol et al. 1997). También se ha visto que la dexmedetomidina es epileptogénica, al ser capaz de reducir el umbral de producción de convulsiones en un modelo experimental de epilepsia generalizada en la rata (Mirski et al. 1994) y en gatos anestesiados con enflurano (Miyazaki et al. 1999).

1.2.3.1.4. Uso clínico en el cerdo

Cualquier procedimiento anestésico-quirúrgico que vaya a realizarse en animales requiere de un mayor o menor grado de sujeción del mismo, pero dado el carácter difícil de la especie

porcina resulta casi imposible recurrir a la sujeción física, por lo que la sedación es la mejor manera de evitar el estrés de los animales y las complicaciones que de éste pudieran derivar.

Se ha demostrado que, de entre todos los fármacos agonistas y antagonistas de los diferentes subtipos de receptores adrenérgicos, tan solo los agentes agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 son capaces de proporcionar, de forma dependiente de la dosis efectos sedantes, ansiolíticos y de relajación muscular derivados de sus acciones en el sistema nervioso central, por lo que vienen siendo utilizados en medicina veterinaria tanto en el campo de la anestesiología clínica como en la captura y manejo de animales salvajes (Jalanka y Roeken 1990).

El empleo conjunto de agonistas adrenérgicos con ketamina mejora la relajación del músculo y se ha convertido en una combinación farmacológica anestésica popular para su uso en cerdos intramuscular (IM) (Kyle et al. 1979; Sakaguchi et al. 1995). Sin embargo, su efecto en combinación con alfaxalona todavía no se ha evaluado en cerdos.

La dexdemetomidina facilita la hipnosis y disminuye la concentración alveolar mínima (CAM) en asociación con agentes inhalatorios así como los requerimientos anestésicos de anestésicos intravenosos (Ickeringill et al. 2004), por lo que se utiliza en la práctica clínica no solo como sedante o en combinación con otros fármacos para preanestesia (Granhholm et al. 2007), sino como fármaco intraoperatorio en infusión continua tanto en medicina veterinaria como humana (Lin et al. 2007).

La dexmedetomidina se ha administrado tanto en medicina humana como en veterinaria de forma parenteral sola y/o combinada con ketamina (Barletta et al. 2011; Ko et al. 2011; Pinelas et al. 2014) y alfaxalona (Grubb et al. 2013; Herbert et al. 2013; Adami et al. 2015; Rodrigo-Mocholí et al. 2015).

Sin embargo, hasta la fecha de realización de esta investigación sólo se ha evaluado su efecto anestésico como coinductora de la anestesia intravenosa con otros agentes

inyectables como el propofol (Sano et al. 2010), pero no se han encontrado otras referencias sobre los efectos anestésicos de la combinación de dexmedetomidina tanto con ketamina como con alfaxalona de forma intramuscular en la especie porcina.

Actualmente, además de nuestro estudio, Hrdalo et al. (2014) y de Monte et al. (2015) han examinado los efectos anestésicos de este fármaco en suidos durante la premedicación de forma intramuscular pero mezclada en la misma jeringa con ketamina o tiletamina y otros sedantes u opiáceos como el zolazepam y metadona. No hemos encontrado en la literatura referencias sobre su empleo intramuscular con ketamina o alfaxalona sin otros fármacos anestésicos.

1.3. BENZODIACEPINAS

Además de los receptores de membrana, los fármacos actúan directa o indirectamente sobre otras proteínas excitables de la membrana celular, como los canales iónicos, que median la señalización neuronal mediante la modulación de la permeabilidad iónica en membranas eléctricamente excitables (Shafer y Schwinn 2005), por lo que su conocimiento es fundamental para el anestesista.

La combinación de una proteína receptor clásico con un canal iónico forma un canal iónico sensible a ligando, que posee regiones transmembrana hidrofóbicas, que estabilizan la estructura de la membrana, y regiones cargadas centralmente, que sirven como poros para el flujo iónico, lo que da lugar a la propiedad exclusiva de ciertos fármacos como las benzodiazepinas y los neuroesteroides de alterar de forma directa la permeabilidad iónica de la membrana.

La unión de fármacos a receptores en complejos de canales iónicos sensibles a ligando en general aumenta o disminuye un flujo iónico inducido por un neurotransmisor ya existente, que en el caso por ejemplo del neurotransmisor GABA, cuando se une a su

receptor dentro del complejo canal iónico sensible a ligando GABA_A, provoca el flujo de iones hacia el interior de la célula, lo que produce un descenso del potencial de membrana, una característica de la neurotransmisión inhibitoria.

1.3.1. Ácido γ - aminobutírico y receptores gabaérgicos

El ácido γ -aminobutírico, más conocido como GABA, es el mayor neurotransmisor inhibitorio en el SNC de los mamíferos. Fue propuesto como neurotransmisor inhibitorio del sistema nervioso de los mamíferos a raíz de los diversos estudios electrofisiológicos que se hicieron entre 1950 y 1965 (Owens y Kriegstein 2002; Bowery y Smart 2005; Jorgensen 2005; Olsen y Li 2012) encontrándose las concentraciones más altas en los ganglios basales, el hipocampo, el cerebelo y el hipotálamo dentro del cerebro, en la sustancia gelatinosa de la rama dorsal de la médula espinal y también en la retina (Steffey 2001). Es el responsable de la mayoría de mecanismos de inhibición post-sináptica rápida en neuronas que controlan la excitabilidad y la capacidad de respuesta de la corteza cerebral, ejerce un papel funcional importante en el control de los reflejos de la médula espinal y del cerebelo, interviene en los procesos de información, plasticidad y sincronización (Conti et al. 2004), e induce desórdenes neurológicos y psiquiátricos humanos como trastornos del desarrollo, retrasos mentales, epilepsia, estados de ansiedad, trastornos del sueño, drogodependencia, especialmente el alcoholismo, y desórdenes de coordinación motora como el síndrome de Huntington y Parkinson (McCormick 1989; Steffey 2001; Conti et al. 2004; Olsen y Li 2012).

El GABA es secretado por terminales nerviosas de la médula espinal, el cerebelo, los ganglios basales, el hipocampo, la sustancia negra y muchas áreas de la corteza cerebral, a partir sobre todo de la glucosa, aunque el piruvato y otros aminoácidos también pueden actuar como precursores (Olsen y Li 2012).

Una vez sintetizado y liberado en las uniones sinápticas, el GABA puede actuar sobre tres tipos de receptores diferentes que se denominan: GABA_A, GABA_B y GABA_C, farmacológicamente distintos, con diferentes mecanismos de segundos mensajeros y distinta localización (Mehta y Ticku 1999; Steffey 2001; Walker et al. 2007), o puede modular su propia liberación en la presinapsis a través de autorreceptores, lo que resulta en una desinhibición (Möhler et al. 2001; Walker et al. 2007).

La acción post-sináptica más importante del GABA, especialmente en regiones cerebrales altas, es la activación de los receptores GABA_A, por ejercer un papel esencial en la regulación de la excitabilidad cerebral (Tanelian et al. 1993). Es el subtipo más abundante, y el receptor diana de numerosas sustancias neuroactivas como el alcohol, y fármacos sedantes, anestésicos generales y anticonvulsivantes como las benzodiazepinas, los barbitúricos, el propofol o los neuroesteroides (Steffey 2001; Schafer y Schwinn 2005; Olsen y Li 2012).

1.3.1.1. Farmacología y estructura del receptor GABA_A

Los receptores GABA_A son glucoproteínas asociadas a la membrana que muestran alguna similitud con los receptores nicotínicos de tipo 3 de la acetilcolina (Darlison y Albercht 1995). Pertenecen a una familia de receptores que poseen un canal iónico para el Cl⁻, operado por ligando que se abre tras la liberación del GABA desde las neuronas presinápticas (Schofield et al. 1987; Steffey 2001), y se localizan tanto en el SNC como en el sistema nervioso periférico. Cuando el GABA se une a su sitio de unión en el receptor GABA_A, dentro del pentámero, los iones cloro van a fluir a favor de gradiente de concentración hacia el interior de la célula. El resultado neto de este movimiento iónico es una hiperpolarización de la membrana celular, por tanto, el umbral de excitación aumenta y la célula se hace menos “excitable” (Salonen et al. 1992).

El receptor GABA_A constituye un complejo macromolecular formado por la combinación de 5 subunidades polipeptídicas, cada una de ellas a su vez formada por 450-550 aminoácidos, dando lugar a una estructura pentamérica con el sitio de unión al neurotransmisor regulador localizado en el mismo complejo macromolecular. Sieghart (1994) identificó seis subunidades α , cuatro subunidades β , tres subunidades γ , una subunidad δ , y dos subunidades ρ , pero se han llegado a identificar hasta 18 clases de subunidades distintas ($\alpha 1$ - $\alpha 6$, $\beta 1$ - $\beta 3$, $\gamma 1$ - $\gamma 3$, δ , ϵ , π y $\rho 1$ - $\rho 3$) (Mehta y Ticku 1999), lo que conduce a la hipotética existencia de un número de subtipos del receptor GABA_A muy elevado (Figura 1.3).

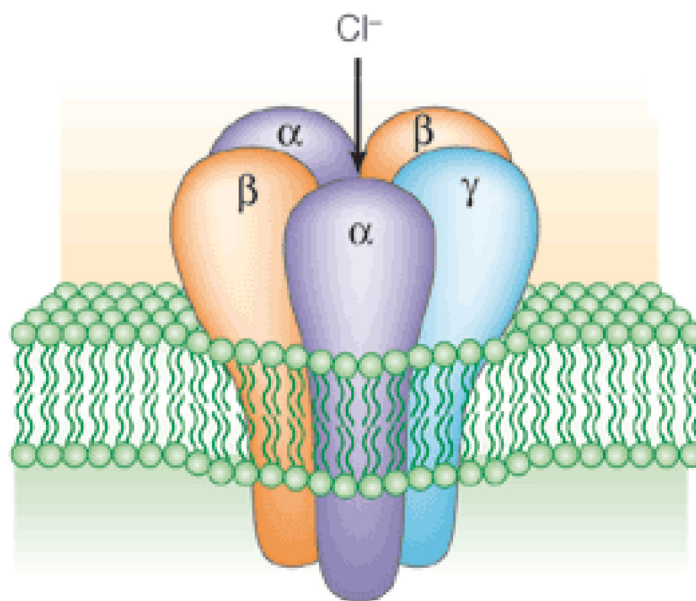


Figura 1.3. Receptor pentámero GABA_A y canal de cloro asociado (Nature Reviews/Neurosciences).

Se ha estudiado la posible composición de los receptores GABA_A nativos, así como la distribución en las distintas regiones del cerebro y los papeles fisiológico/farmacológico de las subunidades más importantes que componen a este receptor. La estructura pentamérica más abundante del receptor GABA_A nativo está formada por dos subunidades

α , dos γ y una β (Backus et al. 1993) o bien dos α , dos β y una γ (Chang et al. 1996). Se ha sugerido también que un total de 4 subunidades α y β alternativas estén conectadas por una subunidad γ en la estructura pentamérica de este receptor (Tretter et al. 1997). Posiblemente, la estructuración de las distintas subunidades dentro de los receptores GABA_A varía entre las diferentes regiones del cerebro y, aunque se requiera la co-expresión de las subunidades α , β y γ para la formación de receptores GABA_A completamente funcionales, la presencia de estos tres tipos de subunidades no es un requisito imprescindible para la formación de todos los tipos de receptores GABA_A (Mehta y Ticku 1999).

1.3.1.2. Modulación de los receptores GABA_A

El receptor GABA_A posee, dentro de su estructura pentamérica, además del sitio de unión del GABA, el sitio de unión de las benzodiazepinas y el sitio de unión de los barbitúricos, que son adyacentes entre sí, pero que constituyen entidades moleculares distintas (Reves et al. 2005). Existen numerosas sustancias agonistas y antagonistas de estos receptores que ejercen su acción al unirse a alguno de estos sitios.

Una de las finalidades de la anestesia es producir una depresión del SNC, lo cual se puede conseguir, por ejemplo, incrementando la inhibición neuronal producida por la activación de los receptores GABA_A en el cerebro.

Éste constituye el mecanismo de acción de numerosos agentes anestésicos como las benzodiazepinas, los barbitúricos, el propofol, el etomidato o los neuroesteroides. Algunos agentes activan directamente el receptor GABA_A, otros aumentan la unión del GABA al receptor, mientras que otros pueden afectar directamente a la apertura del canal de cloro. Muchos agentes anestésicos van a ejercer su acción mediante más de uno de los citados mecanismos (Tanelian et al. 1993).

1.3.2. Benzodiazepinas

Las benzodiazepinas fueron descubiertas accidentalmente como fármacos con propiedades sedativas e hipnóticas (Greenblatt y Shader 1974a; Greenblatt y Shader 1974b). El clordiazepóxido fue sintetizado por primera vez en 1955 por Sternbach, pero no fue hasta 1957 que se descubrió que estos fármacos tenían un efecto hipnótico, sedante y contra la estricnina en ratones eliminando los efectos extrapiramidales (Randall et al. 1960; Sumano y Ocampo 2006), y posteriormente ratificados en 1960, cuando se aprobó su administración oral y se observó a raíz de un accidente traumático de un paciente con fractura de sacro, que además eran capaces de producir amnesia anterógrada (Lemere 1960). Estas propiedades junto a sus efectos anticonvulsivantes en la mayoría de los animales (Muir 2008a), hacen que sea uno de los grupos de fármacos más utilizados en el periodo preoperatorio y en la UCI tanto en medicina humana como veterinaria, siendo el diazepam y el midazolam los representantes más importantes de este grupo.

1.3.2.1. Diazepam

El diazepam fue sintetizado por Sternbach en 1959 (Reves et al. 2005), es un polvo blanco, inodoro, cristalino, y de sabor amargo, con un Pka de 3,4 (Caballero y Ahumada 2002; Sumano y Ocampo 2006). Su nombre químico es 7-dicloro-1,3dihidro-1-metil-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepina-2-1 y su fórmula molecular $C_{16}H_{13}ClN_2O$, con un peso de 284,7 gr/mol (Sumano y Ocampo 2006; Abed et al. 2010).

Todas las benzodiazepinas poseen un mismo anillo heptagonal, el núcleo benzodiazepínico, de siete átomos, de los cuales son cinco carbonos y dos nitrógenos, que según su posición nos permiten distinguir entre 1-4 benzodiazepinas (con nitrógenos en posición 1 y 4, como el diazepam y midazolam), 1-5 benzodiazepinas y 3-4 benzodiazepinas. Este anillo heterocíclico está unido a dos anillos aromáticos, un anillo

benceno y un anillo diazepina, en los que se hacen sustituciones con grupos nitro o halógenos, sin pérdida de actividad farmacológica (Mendoza-Patiño 2008).

El diazepam está formado por un anillo 1,4-diazepínico unido a un anillo bencénico, y para que esta molécula sea activa se requiere además, de un fenilo en la posición 5, un átomo o grupo captador de electrones en la posición 7 (Cl, Br, F, NO₂) y preferentemente otro en la posición 2' (Figura 1.4).

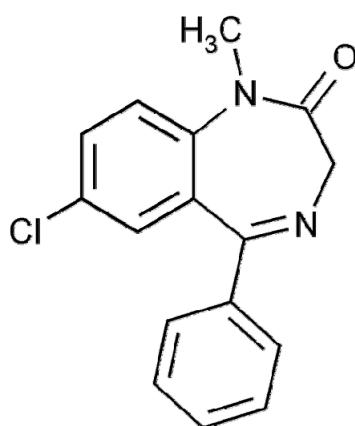


Figura 1.4. Estructura química del diazepam.

El diazepam es poco soluble en agua y disolventes orgánicos, para ello, es necesario ajustar el pH del inyectable a valores entre 6,2 y 6,9, siendo el benzoato de sodio y el ácido benzoico los correctores del pH más comúnmente utilizados (Caballero y Ahumada 2002). Cada ml de la solución de diazepam (Valium®) contiene 0,4 ml de propilenglicol, lo que provoca una inyección intramuscular dolorosa asociada a una baja e impredecible absorción (Greenblatt y Shader 1974a; Greenblatt y Shadder 1974b; Divoll y Greenblatt 1983; Lemke 2007), 0,1 ml de etanol, 0,015 ml de alcohol bencílico, y benzoato sódico/ácido benzoico en agua para inyección (pH 6,2 a 6,9) (Reves et al. 2005; Muir 2008a). El diazepam, como el midazolam y zolazepam, es altamente lipofílico, y se distribuye ampliamente en todo el organismo atravesando fácilmente la barrera hematoencefálica, lo que hace que tenga un

efecto rápido en el SNC, siendo su unión a proteínas de un 90% (Arendt et al. 1983; Caballero y Ahumada 2002; Sumano y Ocampo 2006; Lemke 2007). El diazepam es sensible a formar adherencias en contacto con plásticos, por lo que es recomendable no mantenerlo mucho tiempo en la misma jeringa una vez preparado para la inyección (Winsnes et al. 1981). Está incluido junto a otras benzodiazepinas en el Anexo IV de la Ley de sustancias controladas de 1970 (Gross 2001).

1.3.2.1.1. Mecanismo de acción sobre el SNC

El mecanismo de acción del diazepam en el sistema nervioso central, como todas las benzodiazepinas, es la activación de los receptores GABA (Olsen y Li 2012), favoreciendo la entrada de cloro al interior de la célula nerviosa y por tanto la hiperpolarización. El receptor de las benzodiazepinas constituye una parte integral del receptor GABA_A pentamérico, está localizado de forma adyacente al sitio de unión o receptor del neurotransmisor inhibitorio GABA, y modula el receptor GABA_A, que regula alostéricamente la apertura del canal de cloro que ocurre con la interacción del GABA con los receptores GABA_A, potenciando sus acciones en diversas localizaciones del SNC (Olsen y Tobin 1990; Sieghart 1994). La modulación de la actividad del receptor GABA_A ocurre sólo a concentraciones submáximas de GABA, lo que quiere decir que las benzodiazepinas no pueden modular los efectos en los receptores GABA si la concentración del GABA ha alcanzado un nivel de saturación (Haefely 1989).

Existen tres clases de compuestos con afinidad por los sitios de unión de las benzodiazepinas en los receptores GABA_A, que se clasifican en función de sus propiedades farmacológicas en: agonistas, como los compuestos ansiolíticos benzodiazepínicos, que generan una modulación positiva del receptor GABA_A; agonistas inversos, que son ansiogénicos y generan una modulación negativa del receptor GABA_A; y antagonistas, con

apenas actividad intrínseca para modular el receptor GABA_A, pero son capaces de inhibir los efectos de los agonistas del receptor benzodiazepina y de los agonistas inversos. Se han identificado también los agonistas parciales y los agonistas inversos parciales (Lemke 2007). Las benzodiazepinas, como agentes agonistas de estos receptores, aumentan la conductancia al ion cloro en presencia de GABA, no teniendo ningún efecto por sí solas sobre el flujo de cloro en ausencia de GABA (Morrow et al. 1988; Olsen y Li 2012). La consecuencia de esta mayor conductancia al cloro en las sinapsis es la hiperpolarización de las células, por lo que las benzodiazepinas ejercen una acción inhibitoria en diversas localizaciones del SNC como en la corteza cerebral, la sustancia negra, el hipocampo, el cerebelo y la médula espinal (Reves et al. 2005).

La farmacología de la benzodiazepina de los receptores GABA_A está determinada por las subunidades de α , β y γ que estén presentes, y únicamente aquellos que contienen la subunidad α_1 , α_2 , α_3 ó α_5 , en combinación con cualquiera de las subunidades β y la subunidad γ_2 , que son los tipos de receptores que se encuentran en mayor cantidad en el cerebro, tiene como resultado la modulación de los receptores GABA_A por parte de las benzodiazepinas (Prichett et al. 1989; Hevers y Lüddens 1998; Mehta y Ticku 1999; Möhler et al. 2002). Existen varios estudios que indican que las subunidades α_1 , $\beta_{2/3}$ y γ_2 coexisten en muchos receptores GABA_A nativos presentes en el SNC, estando presentes en el 75-85% de los receptores GABA_A que son sensibles a las benzodiazepinas (Stephenson et al. 1990; Benke et al. 1994). Pero es la combinación $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ la más abundante en todo el SNC, excepto en pocas zonas, como son las células de la capa granulosa del bulbo olfatorio, el núcleo reticular talámico y las motoneuronas de la médula espinal (Pirker et al. 2000).

Las benzodiazepinas aumentan la frecuencia de apertura de los canales de cloro en presencia de GABA (Lemke 2007; Olsen y Li 2012) y también tienen la capacidad de aumentar el tiempo de apertura de los mismos, al igual que los barbitúricos, pero este efecto

es mínimo y probablemente no contribuye a la respuesta global (Study y Barker 1981). No obstante las benzodiazepinas no poseen capacidad intrínseca moduladora y no pueden alterar tampoco los canales de cloro en ausencia de GABA (Lemke 2007; Olsen y Li 2012).

1.3.2.1.2. Farmacocinética

Las tres benzodiazepinas que más se utilizan en anestesia se clasifican según su duración como de duración corta, media o larga, como el diazepam, en función de su metabolismo y su aclaramiento plasmático.

Aunque no hay apenas diferencias en su unión a proteínas y volumen de distribución, existe una notable diferencia en su aclaramiento, siendo el del diazepam de 0.2-0.5 ml/kg/min, mayor que el lorazepam (0.8-1.8 ml/kg/min) y que el midazolam (6-11 ml/kg/min), lo que se traduce en un alargamiento en el despertar del diazepam respecto a sus compañeros de grupo tras la administración de una infusión continua prolongada o bolos repetidos a lo largo de días (Hung et al. 1996).

El tiempo de inicio de acción del diazepam oscila entre 30-60 segundos cuando se administra intravenosamente, y entre los factores que más influyen en su farmacocinética se encuentran algunos como el sexo, la raza, la inducción enzimática, las enfermedades hepáticas y renales y especialmente la edad, que tiende a reducir su aclaramiento de forma significativa (MacLeod et al. 1979), y la obesidad, pues las personas y animales obesos tienen disminuido el retorno de los fármacos del tejido adiposo al plasma, pudiendo sufrir el proceso de redistribución (Caballero y Ahumada 2002).

Cuando se administra por vía intramuscular, su absorción es lenta e incompleta (Lemke 2007), comparada con la que se logra por la vía oral, por la que se absorbe también con rapidez alcanzando la concentración plasmática máxima en 0,5-2 horas. En perros y gatos que están convulsionando se llega a aplicar también por vía rectal, aunque en esos

casos su biodisponibilidad disminuye al 60-70%, por lo que se recomienda ampliar la dosis en un 40% (Sumano y Ocampo 2006). Sin embargo, estudios con voluntarios en medicina humana han determinado que la concentración plasmática máxima alcanzada por el diazepam asciende hasta $199,3 \pm 89,3$ ng/ml a los $33,8 \pm 7,5$ minutos tras su administración intramuscular, y el tiempo medio hasta alcanzar el pico de absorción oscila entre los $13,8 \pm 7,5$ minutos (Hung et al. 1996).

El diazepam forma tres metabolitos desmetilados activos, N-desmetildiazepam (nordiazepam), 3-hidroxidiazepam (temazepam) y oxacepam, los cuales poseen actividad farmacológica y prolongan la duración del efecto de este fármaco (van der Klejin et al. 1971; Caballero y Ahumada 2002; Muir 2008a; Acikgöz et al. 2012); de ellos, el nordiazepam y el oxazepam producen efectos farmacológicos significativos a dosis clínicamente relevantes (Muir 2008a).

La biotransformación del diazepam es producida por la vía de la oxidación-reducción microsomal hepática dependiente del citocromo P450 (CYP) (N-dealquilación o hidroxilación alifática) o reacciones de fase I en el hígado (Blitt 1983; Acikgöz et al. 2012). La oxidación es sensible a las influencias externas y puede estar alterada por determinados factores como la edad avanzada, enfermedades como la cirrosis hepática o la administración simultánea de otros fármacos como la cimetidina, inhibiendo la oxidación y alterando su aclaramiento, que se ve además aumentado con la edad y disminuido con el tabaco (Philip et al. 1990), y también en algunas razas humanas como la asiática, pues tienen con mayor frecuencia alelos mutados en los genes que codifican la CYP2C19 que reduce la biotransformación hepática.

Una vez metabolizado por el hígado el diazepam se elimina por la orina y tiene una duración de una a cuatro horas (Caballero y Ahumada 2006; Muir 2008a).

1.3.2.1.3. Farmacodinamia

1.3.2.1.3.1. Efectos sobre el SNC

Las acciones más importantes de este grupo farmacológico son las ejercidas sobre el SNC, donde en función de la dosis van a producir efectos como tranquilización, sedación, relajación muscular, amnesia anterógrada y acción anticonvulsivante (Olsen y Li 2012), e inducen una pérdida de consciencia de instauración lenta (2-3 minutos) tras la administración intravenosa (Reves et al. 1978), obteniéndose, sin embargo, un efecto meseta inferior al nivel necesario para que pueda considerarse un estado anestésico verdadero (Reves et al. 2005).

El diazepam, como otras benzodiazepinas, deprime el sistema límbico, el tálamo y el hipotálamo, reduciendo las descargas simpáticas, lo que proporciona un efecto calmante leve (Sumano y Ocampo 2006; Muir 2008a), así como el consumo metabólico cerebral de oxígeno y el flujo sanguíneo cerebral de una forma dependiente de la dosis (Reves et al. 2005). No obstante, estudios con ratones han demostrado que el diazepam y el midazolam ejercen un efecto protector de la hipoxia cerebral relacionado con la dosis en ratones a los que se les sometió a oxígeno al 5% manifestado por una mayor supervivencia de los animales, y además aumenta el umbral de inicio de las convulsiones inducidas por anestésicos locales y disminuye la mortalidad de los ratones expuestos a dosis letales de anestésicos locales (de Jong y Bonin 1981).

Los depresores centrales como las benzodiazepinas y algunos anestésicos actúan sobre estructuras supraespinales como el sistema reticular facilitador, en el bloqueo de los reflejos polisinápticos espinales (Ngai et al. 1996; Sumano y Ocampo 2006), produciendo una excelente relajación muscular y reduciendo los espasmos musculares y la espasticidad (Reves et al. 2005; Muir 2008a); de ellos, el diazepam es 20 veces más potente que el

clordiazepóxido en el bloqueo de la rigidez por descerebramiento en los animales (Gross 2001).

En combinación con otros fármacos utilizados en anestesia, las benzodiazepinas son capaces de potenciar su efecto o bien inhibirlo, existiendo en cuanto al efecto hipnótico un claro sinergismo entre las benzodiazepinas con otros fármacos utilizados para producir anestesia general como los opiáceos, el propofol, los barbitúricos, o los agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 (Vinik et al. 1989; Short y Chui 1991; Salonen et al. 1992; Wilder-Smith et al. 1999; Muir 2008a).

1.3.2.1.3.2. Efectos cardiovasculares

El diazepam produce mínimos efectos sobre el sistema cardiovascular en animales (Gross 2001; Lemke 2007; Muir 2008a). Estudios en medicina humana en pacientes sanos y con cardiomiopatía isquémica y valvular, han demostrado que las benzodiazepinas conservan los mecanismos reflejos de homeostasis, por lo que mantienen relativamente estables las constantes hemodinámicas, aunque el reflejo a la hipotensión está alterado cuando se utilizan diazepam y midazolam (Marty et al. 1986), cuyos efectos hemodinámicos son directamente proporcionales a la dosis: a mayor concentración plasmática mayor disminución en la presión arterial sistémica, hasta llegar a la meseta del efecto del fármaco, que en el caso del diazepam se alcanza a los 900ng/ml sobre la que se producen pocos cambios en la presión aunque aumente la concentración de fármaco (Sunzel et al. 1988).

1.3.2.1.3.3. Efectos respiratorios

El diazepam produce algún efecto depresor respiratorio (Gross 2001), si bien la depresión respiratoria que se produce con el diazepam es menor que la producida por su análogo el

midazolam (Reves et al. 2005), aunque la frecuencia respiratoria y el volumen respiratorio apenas resultan afectados (Muir 2008a).

Su administración intravenosa rápida puede producir hipotensión, bradicardia y apnea (Muir 2008a); no obstante la apnea está condicionada con la dosis, y su incidencia y grado aumenta con el uso de opioides y otros fármacos depresores respiratorios, así como con la edad y otras enfermedades concomitantes debilitantes (Reves et al. 2005).

1.3.2.1.3.4. Otros efectos

En seres humanos provoca anomalías congénitas si se administra en el primer tercio de gestación, por lo que aunque no existan informes de estos efectos en animales, debe evitarse su uso durante esa etapa de la preñez, o administrarse con cautela (Caballero y Ahumada 2002). Además se distribuye a la leche y continúa siendo activo (Sumano y Ocampo 2006).

1.3.2.1.3.5. Efectos adversos

Si bien las benzodiazepinas han demostrado ser excelentes tranquilizantes y sedantes en medicina humana; sin embargo en los perros y gatos dosis de 0,5 mg/kg por vía intramuscular o intravenosa no generan ningún tipo de efecto en el 70% de los casos (excepto en pacientes críticos o animales seniles debido a que las benzodiazepinas no producen cambios significativos en el aparato cardiovascular y respiratorio). Se ha descrito la aparición de reacciones paradójicas tras la administración intravenosa de benzodiazepinas, caracterizadas por una repentina agitación, falta de descanso y ansiedad en perros y gatos sanos cuando se utilizan por sí solas (Muir 2008a). Todos estos efectos adversos son revertidos completamente por el flumazenil, que es un fármaco antagonista de las benzodiazepinas cuya acción de inversión es rápida y no se acompaña de ansiedad,

taquicardia o hipertensión. Su duración es relativamente corta y puede ser necesaria una nueva dosificación cuando se pretende antagonizar una gran dosis de benzodiazepina (Robin y Trieger 2002).

Aunque el diazepam es un compuesto relativamente seguro, sin embargo su administración intravenosa puede producir trombosis venosa y flebitis en el sitio de inyección, ha de hacerse por tanto con precaución, de forma lenta para no generar bradicardia e hipotensión, y evitar la vía intraarterial (Caballero y Ahumada 2002; Sumano y Ocampo 2006; Lemke 2007).

En grandes animales se ha observado ataxia (Muir 2008a) y en caballos además también se han visto fasciculaciones musculares, debilidad y postración por sobredosis (Caballero y Ahumada 2002; Sumano y Ocampo 2006). En pequeños animales se han descrito efectos paradójicos de excitación y desorientación, especialmente en los gatos que provoca su agresividad (Sumano y Ocampo 2006; Muir 2008a).

Cuando se administran solas, las benzodiazepinas tienen un efecto hiperalgésico en los seres humanos en algunas circunstancias, que también puede ocurrir en animales, por lo que no deberían ser usadas para el post operatorio a menos que se haya efectuado una correcta analgesia (Flecknell 2009).

1.3.2.1.4. Uso clínico en el cerdo

El grado de sedación que proporcionan las benzodiazepinas varía en función de la especie: si bien en los perros, gatos y caballos se han descrito casos paradójicos de excitabilidad en animales sanos (Lemke 2007; Muir 2008a), en medicina humana y otras especies en veterinaria como conejos, roedores y ovejas produce una marcada sedación (Flecknell 2009).

La utilización de benzodiazepinas en el cerdo se ha reducido con la práctica al diazepam, liposoluble y midazolam, hidrosoluble (Bustamante y Valverde 1995; Softeland et al. 1995; Goodrich et al. 2001; Kaiser et al. 2007; Linkenhoker et al. 2010; Swindle 2007). El diazepam, administrado a dosis de 0,5 mg/kg subcutáneo, 0,44-2 mg/kg intravenoso, 1 mg/kg/h en infusión intravenosa, ó de 2-10 mg/kg por vía oral proporciona una buena hipnosis y sedación de hasta 6 horas de duración en el cerdo (Benson and Thurmon 1979; Thurmon and Tranquilli 1986). Su principal efecto secundario es la aparición de ataxia del miembro posterior a los 5 minutos de su administración, que no constituye un problema grave puesto que el decúbito lateral suele suceder a los 10 minutos tras la administración (Ragan y Gillis 1975; Muir 2008a).

El diazepam es considerado por algunos investigadores como el tranquilizante de elección para la especie porcina, pues su administración intramuscular a dosis de 5,5 mg/kg proporciona una acción neuroléptica o tranquilizante, y cuando se usa a dosis de 8-8,5 mg/kg intramuscular antes del pentobarbital, produce una sedación excelente en unos 30 minutos más profunda y adecuada, y reduce la dosis de éste al 50% (Ragan y Gillis 1975).

También se ha usado para la sedación de cerdos jóvenes a dosis de 7,5 mg/kg por vía intramuscular y para el tratamiento de trastornos del comportamiento e hiperactividad, oscilando la dosis entre 0,5-1,5 mg/kg por vía intramuscular o intravenosa (Sumano y Ocampo 2006).

Sin embargo, aunque dosis habituales de 1-2 mg/kg intramuscular provocan una rápida sedación, calificada como ligera-moderada, es mejor completarla con la administración de otros fármacos como la ketamina (10-15 mg/kg IM) mezclados en la misma jeringa, proporcionando una total inmovilización y relajación muscular, facilitando la intubación y reduciendo los requisitos de éste u otros agentes anestésicos inyectables e inhalatorios (Muir et al. 1991; Muir et al. 2008a; Flecknell 2009).

Son numerosas las referencias en la literatura sobre la combinación del diazepam con ketamina en el cerdo y otras especies domésticas, de laboratorio y salvajes, administrada tanto por vía intravenosa (Reid y Frank 1972; Redig y Duke 1976; Wright 1982; Haskins et al. 1986; Brock y Hildebrand 1990; Hellyer et al. 1991; Terndrup et al. 1993; Kerr et al. 1996) como intramuscular (Green et al. 1981; Branson 2001; Hall et al. 2001; Lin 2007; Muir et al. 2008a; Flecknell 2009; Linkenhoker et al. 2010).

Asimismo y aunque también se han encontrado diversos estudios sobre la administración intravenosa o intramuscular de la combinación conjunta de diazepam y alfaxalona, o su predecesor Althesin[®], en humanos y otras especies veterinarias (Ho et al. 1981; Nēmecek at al. 1982; Psatha et al. 2011; Walsh et al. 2012; del Álamo et al. 2015), bajo nuestro conocimiento no existe hasta ahora bibliografía sobre la administración intramuscular de esta combinación en la especie porcina.

1.3.3. Neuroesteroides

Los neuroesteroides son una subclase de esteroides que pueden sintetizarse en el SNC de novo a partir del colesterol independientemente de las fuentes periféricas (Olsen y Li 2012; Mayo et al. 2003). En cambio, el término ‘esteroide neuroactivo’ se refiere a esteroides que, independientemente de su origen, son capaces de modificar actividades neurales (Dubrovsky 2005). Este término, que se utiliza regularmente en sentido más general, se propuso para todos los esteroides sintéticos y naturales que pudieran alterar rápidamente la excitabilidad de las neuronas mediante su unión al receptor de membrana de la misma manera cómo actúan los neurotransmisores excitadores o inhibidores (Paul y Purdy 1992).

En 1941 Hans Selye observó que estas hormonas esteroideas, progesterona, andrógenos y estrógenos, producían pérdida de conocimiento reversible tras su administración intraperitoneal o intravenosa en ratas, ratones, cerdos de guinea, conejos y

gatos (López-Timoneda y Gasco 2009), pero no fue hasta 1955 cuando se encontró que el succinato de sodio de la 21-hidroxipregnanodiona (Hidroxidiona) era el compuesto que, careciendo de propiedad hormonal alguna, poseía un efecto hipnótico acusado y elegida como la más idónea para su uso clínico (López-Timoneda y Gasco 2009).

La investigación en el campo de los esteroides, ha descubierto una serie de compuestos químicos análogos a la alopregnanolona (AlloP), un metabolito neuroesteroide de la progesterona, y a la corticosterona, cuya administración en seres humanos y animales ejerce efectos sedantes-hipnóticos y ansiolíticos (Olsen y Li 2012). Dos derivados esteroideos en particular, alfaxalona (3 α -hidroxi-5 α -pregnano-11,20-diona) y alfadolona (21-acetoxi-3 α -hidroxi-5 α -pregnano-11,20-diona), se evaluaron por primera vez co-formuladas y disueltas en una base de aceite de ricino tensioactivo que era conocido como CT 1341; esta preparación se comercializó para su uso en animales (Saffan[®]) y humanos (Althesin[®]) (Sear, 1996; Branson 2001; Branson 2007; Meyer y Fish 2008; Olsen y Li 2012). El fármaco contiene 3 partes de alfaxalona por cada una de alfadolona, encontrándose en las concentraciones finales 9 mg/ml de alfaxalona y 3 mg/ml de alfadolona (Branson 2007) (Figura 1.5).

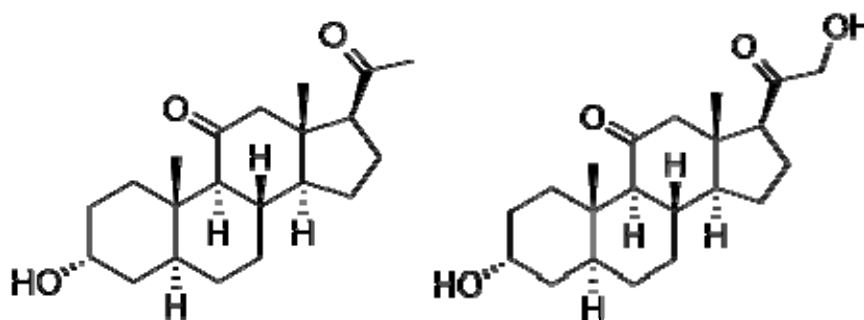


Figura 1.5. Estructura química de la alfaxalona (izquierda) y alfadolona (derecha).

A pesar de que ambos esteroides poseen actividad anestésica, la alfadolona es sólo la mitad de potente que la alfaxalona, pero se incluyó en la fórmula debido a que aumenta la

solubilidad del esteroide más potente (la alfaxalona) (Jones 1985). Ambos se solubilizan en 0,25% de solución salina por el agregado del aceite de ricino polioxietilado p-v (Cremophor EL) al 20%, el cual puede ser diluido con solución salina normal, antes de la inyección (Olsen y Li 2012).

Las ventajas anestésicas de estos fármacos, entre las que se incluyen una rápida inducción, excelente relajación muscular, corta duración y recuperación sin complicaciones (Meyer y Fish 2008), son comparables a las proporcionadas por otros agentes hipnóticos como el propofol o tiopental sódico.

No obstante debido a la liberación de histamina producida por el Cremophor EL se ha descrito hiperemia del pabellón auricular o de la pata en los gatos (Dodman 1980), broncoespasmos y reacciones anafilácticas graves y shock cardiovascular en perros (Child et al. 1971; Evans y Keogh 1977).

1.3.3.1. Alfaxalona

La aparición de nuevos diluyentes como las ciclodextrinas, ha brindado la oportunidad de reinvestigar la seguridad y eficacia de los neurosteroides en la anestesia animal y humana (Brewster et al. 1991).

Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos cristalinos, no higroscópicos, prácticamente inodoros, de ligero sabor dulce, formados por 6,7, y 8 unidades de D-glucosa unidos a través de enlaces glucosídicos α -1-4, denominadas α , β , y γ respectivamente. Su estructura molecular en el exterior es hidrofílica y relativamente lipofílica en la cavidad interior, principalmente la β -ciclodextrina, en cuya cavidad puede albergar a una o más moléculas huésped, y de acuerdo a estas características son capaces de formar complejos de inclusión con muchas sustancias activas por medio de enlaces no covalentes modificando las

características físico-químicas de muchos fármacos, en especial su solubilidad y estabilidad, lo que se traduce en una mejora de su biodisponibilidad (Moyano-Mendez et al. 1994).

Sin embargo, la β -ciclodextrina presenta una solubilidad de 1,85 g/100ml y un alto grado de toxicidad: se ha podido demostrar que presentan una elevada capacidad hemolítica, produciendo cambios morfológicos en los eritrocitos y forman además complejos insolubles con estas proteínas y lípidos plasmáticos (colesterol) que se acumulan a nivel renal, preferentemente a nivel de la corteza renal, y de la vejiga urinaria, por lo que no debe utilizarse en formulaciones parenterales (Brewster et al. 1991). Para ello se prefiere el uso de derivados sustituidos de las ciclodextrinas naturales, en especial de la hidroxipropil- β -ciclodextrina (HPCD), un polvo cristalino blanco obtenida por sustitución de los grupos hidroxilo de la superficie exterior del oligosacárido por grupos hidroxipropil de la β -ciclodextrina, cuyo peso molecular varía dependiendo del grado de sustitución, su solubilidad es mayor de 500 mg/ml en agua a temperatura ambiente, y no es tóxica en dosis menores a 500 mg/kg por vía intravenosa (Moyano-Méndez et al. 1994). Tecnológicamente hablando se reduce el volumen del inyectable lo que produce una disminución en el efecto irritante de ciertos solventes orgánicos que pueden contener las formulaciones.

Se ha estudiado el efecto y comportamiento de los derivados sustituidos de las ciclodextrinas naturales, en formulaciones parenterales, frente a las proteínas plasmáticas cuando se administran en forma de complejo de inclusión con distintos fármacos (Brewster 1991). A nivel subcutáneo e intramuscular la administración convencional de fármacos se ve limitada por la irritación que produce y la baja tolerancia que presenta, siendo a veces especialmente dolorosa, debido a los cosolventes de la formulación, necesarios para conseguir la solubilización total del principio activo. No se han observado dichos efectos indeseables en formulaciones con hidroxipropil- β -ciclodextrina a nivel de la zona de

inyección, alcanzando niveles del 90% su excreción por orina en 24 horas en formulaciones subcutáneas.

Diversos estudios realizados por el fabricante de este hidroxipropil derivado conocido a nivel comercial como Encapsin[®] HPB, indican que la nefrotoxicidad que presenta la β -ciclodextrina no es debida en exclusiva a la baja solubilidad de ésta, su gran capacidad hemolítica es igualmente importante y aunque casi la totalidad de la hidroxipropil- β -ciclodextrina sufre excreción renal, sin embargo, su gran solubilidad hace que no presente actividad tóxica a este nivel, siendo mínima su capacidad hemolítica, de ahí que se recomiende su uso en formas farmacéuticas orales, parenterales y locales, por su gran seguridad y baja toxicidad.

La molécula de alfaxalona, cuyo nombre químico es (3 α ,5 α)-3-hidroxi-pregnona-11,20-diona) y su fórmula condensada C₂₁H₃₂O₃, ha sido disuelta utilizando 2 α -hidroxipropil- β ciclodextrina (Alfaxan[®]) (Brewster et al. 1989; Estes et al. 1990) y posee un peso molecular de 332,5 Da. Es químicamente estable, no libera histamina y no produce irritación del tejido perivascular si se extravasa durante la administración (Branson 2007).

1.3.3.1.1. Mecanismo de acción sobre el SNC

La molécula alfaxalona, es un esteroide neuroactivo sintético que actúa potenciando la unión y modulación alostérica de los efectos inhibitorios del GABA sobre el receptor GABA_A produciendo como otros anestésicos inyectables como las benzodiazepinas, el propofol o los barbitúricos neurodepresión y relajación muscular (Albertson et al. 1992; Goodchild et al. 2000; Lambert et al. 2003).

Estudios de tipo electrofisiológico en neuronas hipocampales han confirmado que los derivados 3 α de la progesterona como la AlloP y la alfaxalona actúan sobre el receptor GABA_A; por una parte a altas concentraciones es capaz de activar directamente el canal del

receptor como los barbitúricos, es decir, aumentando la duración de apertura del canal de Cl⁻, y por otra parte a bajas concentraciones como las benzodiazepinas, aumentando su frecuencia de apertura (Lambert et al. 1995; Lambert et al. 2003). Por lo tanto, una dosis subanestésica intramuscular podría producir sedación.

Se ha visto que los receptores GABA_A formados por las subunidades α , β y ϵ que son insensibles a las benzodiazepinas, en cambio son sensibles a los barbitúricos y aún más sensibles a los neuroesteroides como la AlloP, y aunque la AlloP modula todos los tipos de composiciones de subunidades del receptor GABA_A testadas hasta el momento se ha descrito que aquellas que contienen la subunidad δ (en lugar de la habitual γ) son especialmente sensibles (Puia et al. 1993; Stell et al. 2003).

También se ha descrito la modulación alostérica por neuroesteroides de otros receptores para neurotransmisores ionotrópicos, como son los de serotonina 5-HT₃, NMDA, AMPA, kaínico y nicotínico (Valera et al. 1992; Park-Chung et al. 1994).

La administración intravenosa de alfaxalona HPCD, produce una inducción anestésica intravenosa suave, caracterizada por una rápida pérdida de conciencia y del reflejo de deglución, una marcada relajación muscular y una rápida recuperación con una depresión cardiorrespiratoria similar a la producida por estos otros agentes hipnóticos (Muir et al. 2009; Zaki et al. 2009; Taboada y Murison 2010).

Estudios de investigación sobre las propiedades antinociceptivas de los neuroesteroides han sugerido que los efectos analgésicos de la alfadolona son mediados por los receptores GABA_A a nivel de la médula espinal. La alfaxalona, comparativamente carece de esta actividad, por lo que los efectos antinociceptivos son secundarios a la hipnosis producida por la unión y modulación de los efectos inhibitorios del GABA sobre el receptor GABA_A (Nadeson y Goodchild 2000; Lambert et al. 2003; Mody y Pearce 2004) en lugar

del mecanismo genómico clásico de los esteroides mediado por los receptores citoplasmáticos de alta afinidad de hormonas (Olsen y Li 2012).

1.3.3.1.2. Farmacocinética

La inyección intravenosa de alfaxalona es seguida de un rápido mecanismo de acción; la pérdida de conciencia comienza a los 30 segundos con una rápida redistribución con una vida media corta en el organismo de aproximadamente 30 minutos en el perro (Ferré et al. 2006).

Tiene una semivida plasmática de 7 minutos y no se acumula en tejido adiposo, por lo que no tiene efecto acumulativo después de la administración de repetidas dosis (López-Timoneda y Gasco 2009).

Entre las ventajas anestésicas de la alfaxalona sobre otros agentes inductores usados habitualmente en veterinaria como el propofol o el tiopental sódico, se incluyen una alta tolerancia aguda y un amplio margen de seguridad (Hogskilde et al. 1987; Caballero y Ahumada 2002), así como una rápida recuperación de la conciencia y apetito y una excelente relajación muscular (Caballero y Ahumada 2002; Buisman et al. 2015).

Se ha demostrado que la alfaxalona se une intensamente a las proteínas plasmáticas del suero de la rata, el ratón, el caballo o el hombre, por lo que los efectos de la administración de una dosis no parece que se intensifiquen o aumenten por la presencia de hipoproteinemia, y a pesar de que se metaboliza vía hepática, no ejerce efecto hepatotóxico. No obstante, la anestesia se incrementa en el paciente con deficiencia hepática (Seymour y Glead 2001; Caballero y Ahumada 2002).

La alfaxalona permite el crecimiento de algunos microorganismos aunque en menor medida que otros agentes anestésicos inductores como el propofol (Child et al. 1971).

1.3.3.1.3. Farmacodinamia

1.3.3.1.3.1. Efectos sobre el SNC

La anestesia producida por la alfaxalona a las dosis indicadas se caracteriza por una rápida inducción con una buena relajación muscular, una corta duración (5-20 minutos, que puede mantenerse con una infusión continua o una administración intermitente), y un despertar rápido. Durante la recuperación pueden aparecer excitación, temblores musculares y convulsiones, aunque no son frecuentes las náuseas ni vómitos (Muir et al. 2008b).

1.3.3.1.3.2. Efectos cardiovasculares

La alfaxalona reduce invariablemente la presión sistólica, pero sus consecuencias son de poca relevancia clínica, no sólo no incrementa las arritmias dependientes de adrenalina en el paciente mantenido con halotano o metoxifluorano, sino que incluso las previene en cierto grado (Caballero y Ahumada 2002).

Además, los efectos secundarios cardiovasculares y respiratorios son mínimos cuando la dosis de inducción se administra lentamente hasta conseguir el plano anestésico adecuado (Klöppel y Leece 2011; Walsh et al. 2012)

1.3.3.1.3.3. Efectos respiratorios

Tras la inducción puede haber cierta irregularidad de la ventilación o un corto periodo de apnea, que puede ir acompañada de una pequeña elevación en la presión parcial de CO₂ en sangre arterial (PaCO₂) y una caída en la presión parcial de O₂ en sangre arterial (PaO₂), pero tanto la depresión respiratoria, como la duración de la anestesia son dosis-dependiente

Tos, hipo y laringoespasma son poco frecuentes con la administración de alfaxalona (Muir et al. 2008b; Muir et al. 2009).

1.3.3.1.3.4. Otros efectos

La alfaxalona, a diferencia de otros neuroesteroides, no produce dolor ni irritación cutánea durante la administración intramuscular (Tamura et al. 2015a), ni induce tromboflebitis cuando se aplica por vía intravenosa (Caballero y Ahumada 2002).

Recientes estudios demuestran que los neuroesteroides de perfil GABA+, como la AlloP, son ansiolíticos (Lambert et al. 1995) y actúan sobre el eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA) reduciendo su respuesta al estrés (Wirth 2011), considerándose por lo tanto como una hormona moduladora del estrés. Además, se ha visto que neutralizan las convulsiones y la rigidez propias del síndrome de abstinencia alcohólica, efectos muy relacionados con su acción sobre el hipocampo (Martín-García y Pallarés 2005).

1.3.3.1.3.5. Efectos adversos

En algunos estudios con alfaxalona intramuscular e intravenosa en diferentes especies, se han observado reflejos palpebrales y nistagmos, así como movimientos y temblores musculares de poca importancia durante la inducción y recuperación anestésica (Keates 2003; Dziki 2014; Tamura et al. 2015a), aunque no modifica la respuesta a los relajantes musculares (Caballero y Ahumada 2002).

1.3.3.1.4. Uso clínico en el cerdo

La administración de Saffan® en cerdos neonatos de hasta una semana de vida a dosis de 2-3 mg/kg intramuscular son suficientes para inducir una profunda sedación con buena relajación muscular y analgesia; dicha dosis administrada de forma intravenosa es suficiente para lograr un estado anestésico, que se podría mantener hasta dos horas mediante bolos (Green et al. 1978).

Estudios preliminares con alfaxalona/alfadolona en cerdos adultos sin premedicar a dosis de 1-8 mg/kg administrada por vía intramuscular, evidencian un excelente efecto sedante e incapacidad para mantenerse en pie en cerdos de 17-93 kg de peso (Cox et al. 1975; Flecknell 2009), con una duración que oscila entre 4-15 minutos (Branson 2007; Smith y Swindle 2008), y al contrario que la azaperona, los estímulos sensoriales no parecen provocar una marcada respuesta excitadora (Cox et al. 1975); además, la recuperación es rápida, con menos excitación si se compara con otros hipnóticos de acción corta como por ejemplo el etomidato (Branson 2001).

Sin embargo, el volumen de inyección necesario para ello y el precio constituye un inconveniente demasiado importante, y es habitual emplear otros fármacos para la premedicación con el fin de reducir la dosis necesaria para la inducción. La azaperona por vía intramuscular es un tranquilizante común en la especie porcina, y administrada como preanestésico para la inducción con Althesin[®], permite reducir la dosis de éste hasta 1-2 mg/kg intravenoso, produciendo una buena anestesia quirúrgica, con una relajación muscular adecuada, una depresión respiratoria mínima y una recuperación sin problemas incluso añadiendo dosis adicionales de 3 mg/kg en procedimientos cortos para prolongar la anestesia (Cox et al. 1975; Flecknell 2009), aunque en animales debilitados o mayores estas dosis adicionales no suele ser necesarias.

La nueva formulación de la alfaxalona HPCD ha sido también utilizada en cerdos premedicados con azaperona, de forma intravenosa a dosis de 0,7-0,9 mg/kg, proporcionando una buena calidad de intubación con mínimos efectos secundarios en la mayoría de los animales del estudio (Keates 2003). No obstante, se observaron temblores musculares después de la inducción con la alfaxalona así como una leve agitación en algunos cerdos.

Esta nueva alfaxalona HPCD ha sido probada para la inducción anestésica intravenosa en otras especies domésticas en combinación con relajantes musculares como las benzodiazepinas y agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 , administrados éstos bien de forma intramuscular previos a la inducción (Dzikiti et al. 2014; Giral et al. 2014) o conjuntamente con la alfaxalona en la misma jeringa (Klöppel y Leece 2011; Walsh et al. 2012), proporcionando una sedación moderada-profunda y una anestesia caracterizada por una inducción suave y una rápida recuperación, permitiendo la intubación endotraqueal y reduciendo significativamente la dosis necesaria de alfaxalona sin efectos secundarios cardiorrespiratorios clínicamente relevantes y mínimos temblores musculares.

Sin embargo, hasta ahora no se conoce el empleo de ninguna de estas combinaciones en el cerdo, tanto intravenosa como intramuscular.

1.4. ANESTÉSICOS DISOCIATIVOS

Se denomina anestesia disociativa a un estado anestésico caracterizado por una profunda amnesia, analgesia y catalepsia inducido por fármacos que no producen una depresión generalizada de los centros cerebrales, sino que interrumpen la transmisión ascendente desde zonas del subconsciente a zonas conscientes del cerebro (Muir et al. 2008a).

La denominación de esta modalidad de anestesia general viene dada a raíz del empleo de la ketamina en medicina humana por la sensación de disociación o ignorante del entorno que experimenta el paciente durante la inducción anestésica (Price 1975), que puede llegar a padecer efectos psicósomáticos como alucinaciones, confusión y miedo antes de perder la conciencia y al despertar.

La evidencia encefalográfica muestra además una disociación entre el tálamo y el sistema límbico que inducen en el paciente un estado cataléptico, en el cual los reflejos motores no son inhibidos, se mantienen los reflejos oral, de deglución y ocular con los ojos

abiertos y un ligero movimiento de nistagmo (Winters et al. 1972; Muir et al. 2008a) y los pacientes mantienen cierto grado de hipertonicidad muscular llegando incluso a presentar movimientos reflejos, que se pueden reducir con fármacos que producen relajación muscular.

Las drogas disociativas actúan alterando la distribución del neurotransmisor ácido glutámico o glutamato (Glu) a través del cerebro. El Glu es el principal neurotransmisor excitador del cerebro y la médula espinal de los mamíferos (Orrego y Villanueva 1993; Steffey 2001); se considera que el 75% de la transmisión excitatoria del cerebro es responsabilidad del Glu (Steffey 2001).

1.4.1. Glutamato y receptores glutamaérgicos

El Glu, es un aminoácido dicarboxílico no esencial que se sintetiza en la mitocondria de la neurona a partir de dos fuentes principales: desde glucosa a partir del ciclo de Krebs y transaminación de α -cetoglutarato, y desde Glu que es tomado desde el espacio sináptico tanto por neuronas como por astrocitos, y desempeña un papel importante en los procesos de transaminación y síntesis de otros aminoácidos como la prolina, ornitina y arginina, que necesitan su formación previa (Barnes y Slevin 2003; Hassel y Dingleline 2012).

El Glu, una vez sintetizado, se libera hacia el citoplasma en donde se acumula en vesículas sinápticas por un proceso dependiente de Mg^{2+}/ATP (Hassel y Dingleline 2012). El impulso eléctrico (potencial de acción) recorre la neurona presináptica hasta llegar a la terminal axiónica, donde promueve la liberación del Glu en la sinapsis a través de un mecanismo dependiente de la concentración intracelular de Ca^{2+} , mediante un proceso de exocitosis (Pigino et al. 2012), para interactuar con sus receptores específicos en la superficie de la membrana postsináptica.

Las sinapsis glutamatérgicas constituyen el sistema de neurotransmisión excitatoria rápida más abundante en el sistema nervioso central de los mamíferos. La activación de estos receptores es la responsable de la transmisión sináptica excitadora y de muchas formas de plasticidad sináptica en el adulto, involucradas en la percepción del dolor, las respuestas al ambiente, el aprendizaje y la memoria así como en desórdenes neurodegenerativos y neurotóxicos, epilepsia e isquemia cerebral. Pero además, muchos otros estudios han demostrado que el repertorio funcional del Glu va más allá de su función dentro del sistema nervioso central, comprobándose la existencia de receptores de Glu en otros órganos y tejidos como corazón, riñón, páncreas, hipófisis, glándulas adrenales y gónadas (Gill et al. 1998; Gill y Pulido 2001) e incluso en osteoclastos, osteoblastos y en los terminales nerviosos no mielinizados de la piel (Chenu et al. 1998; Dingley y Conn 2000).

Para el desarrollo de sus funciones el Glu interacciona con diferentes tipos de receptores, que han sido clasificados en base a sus características farmacológicas, electrofisiológicas y bioquímicas en dos grupos, metabotrópicos e ionotrópicos.

1.4.1.1. Receptores metabotrópicos (mGluR)

Constituyen un conjunto de receptores acoplados a proteínas G, que realizan sus funciones bien a través la modulación de la producción de segundos mensajeros intracelulares y de la regulación de la fosforilación de proteínas, o bien a través de la modulación directa de canales de Ca^{2+} o K^{+} .

Estos receptores han sido divididos en tres grupos a partir de la similitud en sus secuencias, sus propiedades farmacológicas y los mecanismos de señales intracelulares que desencadenan. Los receptores del grupo I están asociados a las señales del calcio intracelular, promoviendo la formación de diacilglicerol e IP3 (Manzoni et al. 1990; Schoepp et al. 1990), con la consiguiente activación de proteína quinasa C e incremento en

la liberación de Ca^{2+} desde los compartimentos intracelulares, respectivamente. Este grupo está integrado por los receptores mGluR1 y mGluR5. El grupo II está integrado por los receptores mGluR2 y mGluR3, mientras que el grupo III comprende los subtipos mGluR4, mGluR6 mGluR7 y mGluR8. Tanto los receptores del grupo II como los del grupo III están acoplados negativamente a adenilato ciclasa y, por tanto, a la reducción de los niveles de AMPc (Conn y Pin 1997).

1.4.1.2. Receptores ionotrópicos

Están constituidos por canales catiónicos operados por ligando, los cuales se asemejan a los receptores GABA_A . Están formados por 4 ó 5 subunidades que comparten la misma estructura básica.

Al igual que otros canales que permiten el paso de iones, el receptor ionotrópico para Glu posee 4 partes hidrofóbicas en la parte central de la secuencia llamadas TM-I, TM-II, TM-III y TM-IV, pero a diferencia de otras subunidades de otros receptores, la parte TM-II forma una especie de asa que se extiende en la bicapa de tal forma que obtiene un $-\text{NH}_2$ terminal extracelular y un $-\text{COOH}$ terminal intracelular. Además, mientras que en el caso de otros receptores ionotrópicos la parte entre TM-III y TM-IV es intracelular, en el receptor para Glu, esta parte es extracelular y forma parte del dominio de reconocimiento del ligando. Según su comportamiento farmacológico se dividen a su vez en tres tipos:

- ***Receptores del ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico (AMPA).***- Se localizan fundamentalmente a nivel postsináptico en gran cantidad en el sistema nervioso central a nivel de la lámina I y II del Sp5C y en células del asta posterior y ganglionares dorsales correspondientes a las fibras tipo C y A delta de la médula espinal (Furuyama et al. 1993; Huettner 1993; Sato et al. 1993). Activan canales iónicos permeables a Na^+ y K^+ y en algunos casos a Ca^{2+} , e intervienen

principalmente en la transmisión glutamatérgica rápida en el sistema nervioso central.

- **Receptores del kainato.**- Se localizan tanto a nivel postsináptico como presináptico en las mismas células del SNC y médula espinal que los anteriores (Furuyama et al. 1993; Huettner 1993; Sato et al. 1993), y aunque comparten con éstos la misma topología y estequiometría, constituyen un grupo diferente. Los receptores para kainato han sido clásicamente implicados en la epileptogénesis; durante mucho tiempo se ha utilizado como modelo farmacológico de la inyección intraperitoneal de kainato como modelo de crisis del lóbulo temporal (Nadler 1981).
- **Receptores del N-metil-D-aspartato (NMDA).**- Los receptores NMDA son proteínas complejas y tremendamente reguladas que están asociados con los procesos de aprendizaje y memoria, el desarrollo y la plasticidad neural, así como en la respuesta al dolor (Sukiennik y Kream 1995). De igual modo que los dos anteriores, se expresan también en las células del asta posterior y ganglionares dorsales correspondientes a las fibras tipo C y A delta de la médula espinal (Furuyama et al. 1993; Huettner 1993; Sato et al. 1993), y se ha localizado una gran densidad a nivel central en la lámina I y II del Sp5C, así como ARNm de receptores NMDA en el ganglio del trigémino, aunque no su proteína (Watanabe et al. 1994).

1.4.2. Receptores del N-Metil-D-Aspartato (NMDA)

1.4.2.1. Funcionamiento de los receptores NMDA

Intervienen en el inicio y mantenimiento de la sensibilización central, asociada a daño o inflamación de los tejidos periféricos (Wei et al. 1999). La estimulación repetitiva de las fibras aferentes nociceptivas de tipo C origina un aumento del tamaño de los campos receptivos y de la respuesta de las neuronas nociceptivas espinales a los estímulos

adecuados. Este fenómeno, denominado “wind-up”, está mediado por la liberación de neurocininas, especialmente la sustancia P y aminoácidos excitadores como el Glu y el aspartato, por aferencias primarias de tipo C que actúan sobre los receptores NMDA y neurocinina1 (NK1). La activación de estos receptores puede activar la proteína-quinasa C por la vía de la cascada de inosítoles produciendo la síntesis de prostaglandinas y de óxido nítrico y es bloqueada por antagonistas de los NMDA y antagonistas específicos del receptor de NK1, que se postula es el principal lugar de unión de la sustancia P (Sukiennik y Kream 1995; Linden y Seybold 1999). Estas propiedades han sido ampliamente utilizadas para evaluar la posible eficacia terapéutica de fármacos analgésicos.

1.4.2.2. Estructura de los receptores NMDA

Están formados mediante ensamblajes de subunidades NR1 y NR2, y presentan dos áreas de reconocimiento del ligando características: el lugar de fijación del Glu (en la unión de una subunidad NR1 con una subunidad NR2) y el lugar de reconocimiento de la glicina (en la subunidad NR1). Activan canales permeables tanto a Na^+ y K^+ como a Ca^{2+} ; pero para que estos receptores funcionen correctamente se requiere la expresión de ambos tipos de subunidades junto a la unión del Glu y de la glicina a sus puntos de unión (Figura 1.6).

Los receptores NMDA funcionales generalmente se forman por heterotetrámeros integrados por dos dímeros conformados por las subunidades NR1-NR2, en donde en la subunidad NR1 posee un sitio de unión para glicina cada una y en la subunidad NR2 con un sitio de unión para Glu en cada una de ellas, es decir 2 sitios de unión para glicina (S1) y dos para Glu (S2) en cada receptor (Schüler et al 2008). Por tanto, el dímero NR1-NR2 se considera la estructura base de organización funcional en cada receptor en donde se localizan los diversos sitios de unión y de reconocimiento para diferentes ligandos, tanto fisiológicos como farmacológicos.

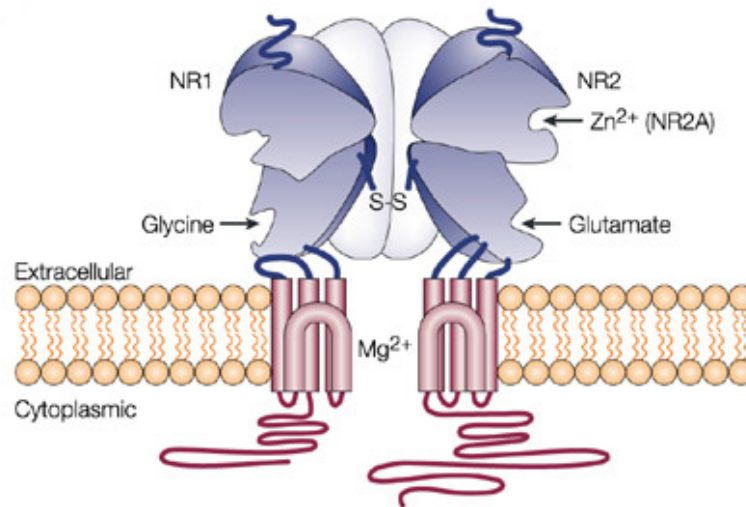


Figura 1.6. Estructura Receptor NMDA: Subunidad NR1 con el sitio de unión de la glicina, y subunidad NR2, con el sitio de unión del Glu, coagonistas obligatorios para la funcionalidad del receptor (Nature reviews/Drug Discovery).

Además de estos sitios naturales de unión a estos aminoácidos en el dímero NR1-NR2, posee otros sitios de unión para ligandos endógenos como las poliaminas, sitios de redox para protones y para Zinc, que permiten el aumento o disminución del flujo de calcio regulando la actividad del receptor NMDA bajo condiciones fisiológicas o patológicas, y para ligandos exógenos como esteroides o etanol y otras moléculas sintéticas, que sirven para el estudio experimental de las propiedades del receptor y facilitar el desarrollo de antagonistas.

Trabajos realizados por Das et al. (1998) demostraron la existencia de dos variantes de la subunidad NR3 (a y b) codificada por genes distintos, que al igual que la subunidad NR2 es una subunidad reguladora, cuya presencia disminuye las corrientes iónicas generadas por la activación de los heterómeros NR1/NR2.

Estudios posteriores demostraron que la co-expresión de NR1/NR3b forma receptores de glicina excitadores, insensibles al Glu, al NMDA, y al bloqueo por Mg^{2+} ,

debido a esto se ha propuesto que este tipo de receptores podría intervenir en la activación de las llamadas sinapsis silenciosas de NMDA (Das et al. 1998).

Las variedad de estos receptores se deben a pequeñas modificaciones de las secuencias de aminoácidos de las subunidades NR1 y NR2; tanto los mecanismos que regulan estas variaciones en condiciones fisiológicas y patológicas, como el número de R-NMDA en las sinapsis, difieren ampliamente entre especies.

1.4.3. Fármacos disociativos

En este grupo están las arilciclohexilaminas, entre las que se encuentran la fenciclidina y sus derivados, la ketamina y la tiletamina, utilizadas para proporcionar calma, inmovilización y como anestésicos generales (Chen y Ensor 1968; Thurmon et al. 1972).

El clorhidrato de fenciclidina fue el primer anestésico disociativo utilizado, aunque debido a su gran potencia y las recuperaciones prolongadas, fue prohibido en 1979 para su uso en Estados Unidos y recalificada en la lista II de la Controlled Substances Act de 1970.

Aunque fue aprobada por la FDA únicamente para su empleo en gatos y primates no humanos, el clorhidrato de ketamina se está utilizando en la mayoría de las especies (Wright 1982), y es hoy en día el anestésico disociativo más empleado en medicina veterinaria y humana por su rápida capacidad hipnótica y sus propiedades analgésicas en el tratamiento del dolor crónico y neuropático (Cuesta et al. 2003; Hocking y Cousins 2003; Wiech et al. 2004; Navarrete-Zuazo 2014). Está clasificada como perteneciente a la lista III de la Controlled Substances Act de 1970 estando su uso prohibido en animales destinados al consumo humano.

El Zoletil[®] es un combinado disociogénico de una benzodiazepina (zolacepam) y tilelamina (similar a la ketamina pero el doble de potente) en ratio 1:1 (Lin 2007), que fue aprobado por la FDA en 1982 para su uso anestésico en perros y gatos, aunque se utiliza en

todas las especies animales y es especialmente útil en animales exóticos y gatos o perros agresivos (Muir et al. 2008a). Su comercialización conjunta (Zoletil®) se basa en el mismo efecto que tiene la administración de un tranquilizante conjuntamente con la ketamina.

1.4.3.1. Ketamina

El clorhidrato de ketamina es un polvo blanco, de olor característico, sabor amargo, cristalino e hidrosoluble en agua estéril inyectable o solución salina (Sumano y Ocampo 2006), que fue sintetizada en 1963 por Steven a partir de la fenciclidina (Collins 1996) y cuyo nombre químico es el clorhidrato de 2-(o-clorofenil)-2-(metilamino) ciclohexanona y su fórmula condensada es $C_{13}H_{16}ClNO$ con un pKa de 7,5.

Tiene un peso molecular de 237,7 Dalton, un punto de fusión de 258-261°C con un pH de la solución inyectable próximo a 3,5-5,5, lo que puede producir algo de irritación durante su administración por vía intramuscular (Branson 2001; Sumano y Ocampo 2006) (Figura 1.7).

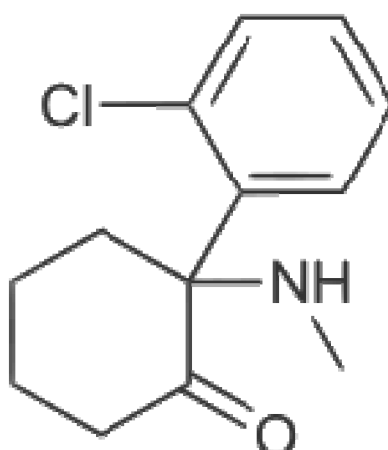


Figura 1.7. Estructura química de la ketamina.

Es un anestésico disociativo de acción ultracorta, que ha sido usado desde hace más de treinta años (Domino et al. 1965; Raeder y Stenseth 2000) y cada día se afianza más en la

práctica clínica humana y veterinaria, ya que la gran utilidad que presta este fármaco en el manejo y contención de especies de laboratorio así como en la captura y transporte de animales salvajes, y su extraordinaria seguridad, ha posibilitado su empleo en casi todas las especies de mamíferos.

El preparado comercial (Imalgene[®]) contiene una mezcla racémica de dos isómeros ópticamente activos o enantiómeros, S(+) ketamina y R(-) ketamina, al 50% y se encuentra disponible en preparaciones de 50 y 100 mg/ml, pudiendo administrarse de forma intramuscular o intravenosa.

White et al. (1980) sugirieron que la forma S(+) ketamina, cuatro veces más potente que la forma racémica, podría ser más útil que ésta última, ya que posee ventajas clínicas significativas, mayor eficacia y menor número de efectos adversos que ella.

Posteriormente, Errando (2002) y González (2004) demostraron, confirmando la teoría de White et al. (1980), que el isómero S(+) ketamina conserva sus propiedades hemodinámicas, pero es más potente (entre dos y cuatro veces) desde el punto de vista de la hipnosis y de la analgesia que la mezcla racémica RS ketamina y que el isómero R(-) ketamina, con una incidencia menor de efectos psicomiméticos, y conservando su utilidad en el manejo del dolor crónico o neuropático.

En 1965 Domino et al. aplicaron ketamina por primera vez a seres humanos; ya durante el primer ensayo, se hizo evidente su falta de acción depresora en los sistemas cardiorrespiratorios que producía durante el periodo anestésico y los inconvenientes de usar el medicamento como único agente anestésico, pero éstos podían subsanarse con una correcta premedicación y resultaba un fármaco fácil de controlar con un mínimo de fármacos o dispositivos adyuvantes y con una extraordinaria seguridad y eficacia que no tenía ningún otro anestésico general existente (Collins 1996).

1.4.3.1.1. Mecanismo de acción sobre el SNC

La ketamina, como cualquier otra droga, tiene su ventana terapéutica y pone de manifiesto diferentes efectos dependientes de la dosis tanto a nivel de SNC como hemodinámicos, desde una zona sin efecto o muda, seguida –a medida que aumenta su concentración en el plasma– de una zona de analgesia o de efecto pseudonarcótico, una zona de anestesia disociativa y, finalmente, una zona de saturación donde se observan los impactos sobre la tensión arterial, la frecuencia cardíaca y los delirios postoperatorios (Navarrete-Zuazo 2014).

Los estudios de EEG durante la anestesia con ketamina en el hombre y animales de experimentación, demuestran que el fármaco ejerce un efecto altamente selectivo sobre el SNC. Los cambios en el EEG indican que ocurre una depresión del sistema tálamo-neocortical además de una activación del sistema límbico, e incluyen desincronización del hipocampo de suficiente intensidad como para alterar el nivel de conciencia e inducir los niveles de anestesia I y II, amnesia (Branson 2001) y actividad epileptiforme en el EEG de las regiones límbicas y talámicas que ocasionalmente induce un estado similar al pequeño mal sobre todo si la premedicación no es la correcta (Kayama e Iwama 1972).

Se ha constatado que la S(+) ketamina se une al receptor NMDA con mayor avidez que la R(-) ketamina, produciendo un efecto hipnótico más potente, una analgesia más eficaz, y menor incidencia de efectos nauseabundos, vómitos y mareos, así como de delirios o desorientación al despertar (Collins 1996; Cardona y Nova 2003).

Se cree que la causa por la cual la ketamina induce catalepsia puede deberse a una deficiencia en la función de la dopamina o a un desequilibrio en la función colinérgica-dopaminérgica, aunque no pueden ignorarse otros neurotransmisores como la serotonina, que está también asociada al sistema extrapiramidal y puede inducir catalepsia cuando se administra intracerebroventricularmente en el gato. Esto se ha comprobado al administrar al

animal un neuroléptico antiserotonina como el maleato de metioleptina y otro antidopamina, como la pimocida, antes de administrar ketamina y no manifestarse la catalepsia inducida por el fármaco (Hatch 1973).

Desde hace ya algunos años, en medicina humana la ketamina ha sido usada como analgésico, tanto en anestesiología en el intraoperatorio y postoperatorio de diversos tipos de intervenciones quirúrgicas, como en cuidados intensivos y en el tratamiento del dolor. Este resurgir está relacionado directamente con la desaparición de sus efectos negativos al administrarse a dosis subanestésicas (Domino et al. 1965; Reich y Silvey 1989; Jahangir et al. 1993; Hirota y Lambert 1996; Lee et al. 2011; Navarrete-Zuazo 2014).

Su actividad analgésica está mediada por varios mecanismos que incluyen la inhibición de la recaptación de serotonina y dopamina, de los canales de sodio y potasio y de la formación de ácido nítrico y citoquinas proinflamatorias, y disminuye la adhesión de leucocitos y plaquetas y la formación de granulocitos, promotores de la cascada de la inflamación. Entre sus facultades principales se encuentra además del bloqueo de receptores NMDA, AMPA, Kainato y ácido aminobutírico, la activación del sistema inhibitorio descendente monoaminérgico, que es activado a través de los receptores opiáceos (Olivar y Laid 2000; Errando et al. 2004).

La interacción de la ketamina con estos receptores es compleja: actualmente se sabe que la ketamina interactúa con los receptores opiáceos μ , δ y κ , y se cree que la reversión de la tolerancia de los opioides mediante ketamina es debida a la interacción de los receptores μ con los receptores NMDA y el óxido nítrico (Hocking y Cousins 2003) (Tabla 1.4).

En condiciones normales los receptores NMDA están bloqueados por el magnesio. Tras un estímulo nocivo intenso o repetitivo, la despolarización de la neurona abre el canal iónico y se produce la entrada masiva de calcio al interior de la célula, lo que acelera la despolarización. La acción del Glu y los neuropéptidos moduladores sobre los receptores

AMPA despolariza a las neuronas sacando el magnesio de su sitio de unión, permitiendo la entrada de calcio al interior de la neurona postsináptica, que activa a su vez diversos sistemas de segundos mensajeros que dan lugar a cambios bioquímicos y moleculares en dichas neuronas a largo plazo, lo que puede ser un puente en la patogenia del dolor crónico (Navarrete-Zuazo 2014). El resultado final es una forma de sensibilización central a los estímulos nociceptivos periféricos que se manifiesta por alodinia e hiperalgesia (Sukiennik y Kream 1995; Olivar y Laird 2000).

En la médula espinal existen múltiples receptores metabotrópicos cuya función es la de regular la aferencia de información nociceptiva al asta posterior de la médula (Neugebauer et al. 1994), siendo el grupo I (mGlu1/5) el implicado en los mecanismos nociceptivos. La administración de agonistas mGlu1/5 aumenta la excitabilidad de las neuronas del asta posterior e interaccionan con los receptores NMDA y/o AMPA, incrementando la respuesta dolorosa. La hormona liberadora de tirotrópina (TRH), interviene también en la transmisión nociceptiva en el asta posterior de la médula espinal, mediante una modulación positiva selectiva de la transmisión en los receptores mediados por NMDA (Chizh y Headly 1996).

Tabla 1.4. Producción del efecto analgésico de la ketamina.

Mecanismos de acción y propiedades de la ketamina en la inhibición del dolor.
Interacción con canales de calcio dependientes.
Efecto antagonista sobre receptores NMDA, AMPA, Kainato y Ácido aminobutírico.
Inhibición de la recaptación de serotonina y dopamina.
Interacción con receptores opiáceos, monoaminérgicos y muscarínicos y nicotínicos de la acetilcolina.
Reducción de la liberación presináptica de Glu.
Inhibición de la formación de ácido nítrico y citoquinas proinflamatorias.
Disminución de la adhesión de leucocitos y plaquetas y de la formación de granulocitos.

Las teorías y estudios sobre el efecto analgésico de la ketamina son complejas; así, varios estudios han sugerido que el efecto analgésico de la ketamina a nivel central se debe a la activación del sistema inhibitorio descendente monoaminérgico y que dicho sistema se activa, al parecer, a través de la interacción con los receptores opiáceos (Hirota y Lambert 1996; Olivar y Laird 2000), mientras que algunos autores atribuyen al bloqueo de los receptores NMDA como el mecanismo primario de la acción anestésica de la ketamina y sostienen que la afinidad de la ketamina por los receptores opiáceos es 10 veces menor que la del fármaco por los receptores NMDA (Granry et al. 2000).

La ketamina bloquea de forma no competitiva a los receptores NMDA (Hewitt 2000; Kawamata et al. 2000; Olivar y Laird 2000) y tiene una afinidad del sitio de la fenciclidina, en el canal iónico asociado con el receptor NMDA significativamente mayor que otros antagonistas no competitivos de los receptores NMDA (Sukiennik y Kream 1995; Wiech et al. 2004). Además, reduce la liberación presináptica del Glu (Raeder y Stenseth 2000).

Actualmente se sabe que la ketamina interactúa con los receptores opiáceos μ , δ y κ ; estudios in vitro con ketamina y los isómeros R(-) ketamina y S(+) ketamina, han descrito que la ketamina desplaza a la naloxona (antagonista de los receptores opioides) de los receptores opiáceos en el cerebro de ratas, y que el isómero S(+) es dos veces más potente que el R(-) para este propósito (Reich y Silvey 1989). Hirota y Lambert (1996), sugirieron que la ketamina puede antagonizar a los receptores μ y actuar como agonista de los receptores κ , y que el efecto analgésico de la ketamina no está mediado por receptores opiáceos μ en el SNC.

La activación de los receptores NMDA como respuesta a un estímulo doloroso puede reducir la sensibilidad a los analgésicos opiáceos (Dickenson 1997). Estos receptores juegan un papel fundamental en el desarrollo de la tolerancia a dichos fármacos (Bell 1999; Hewitt 2000). Al parecer, para que la analgesia ocurra se necesita un equilibrio entre excitación e

inhibición, siendo necesaria una mayor cantidad de opiáceos para controlar el dolor cuando los receptores NMDA están activados (Dickenson 1997; Hewitt 2000). Este descubrimiento ha permitido controlar dolores de origen neural refractarios a los opiáceos, sobre todo, respuestas dolorosas del tipo hiperalgésico, con los antagonistas de los receptores NMDA (Dickenson 1997; Bell 1999). Además, la tolerancia a un analgésico opiáceo se puede revertir agregando al tratamiento un antagonista de los receptores NMDA (Bell 1999; Hewitt 2000).

El uso intraoperatorio de la ketamina como base analgésica de la anestesia total intravenosa ha probado ser particularmente útil en la reducción del consumo de opioides para el control del dolor postoperatorio, así como para evitar los fenómenos de hiperalgnesia mediadas por los aminoácidos excitatorios vía receptor NMDA, tanto inducida por trauma como la inducida por drogas como los opioides, entre los que destaca en particular el remifentanilo; al igual que la alodinia inducida por opioides (Laskowski et al. 2011; McGuinness et al. 2011).

1.4.3.1.2. Farmacocinética

La ketamina se distribuye en el organismo en un sistema de tres compartimentos; inicialmente se diluye en el torrente sanguíneo, a continuación disminuye con rapidez la concentración plasmática debido a la distribución y captación rápida de los tejidos, en especial en el tejido adiposo, el hígado, el pulmón y el cerebro (Lannig y Harmel 1975), y por último, hay una fase de eliminación.

La vida media biológica aparente de la ketamina es 2-3 horas (White et al. 1982) y no depende de la vía de administración parenteral, aunque puede prolongarse y retrasarse la recuperación por el uso previo de sedantes como el diazepam (Lo y Cumming 1975); su

unión al plasma y a la albúmina depende del pH, disminuyendo a valores de pH inferiores a 7,4 y aumentando a valores de pH superiores (Dayton et al. 1983).

Cuando los niveles de ketamina declinan por redistribución, al compartimento periférico, el efecto sobre el SNC termina, aunque no tan rápidamente como sería de esperar debido a su alta liposolubilidad.

La degradación metabólica de la ketamina se lleva a cabo en el hígado por desmetilación e hidroxilación (Sumano y Ocampo 2006), donde se transforma básicamente en dos metabolitos, norketamina y norhidroketamina, con actividad anestésica. El primero, aparece en el plasma en el transcurso de 2-4 minutos, lo que indica una degradación metabólica rápida, se acumula con rapidez en el cerebro en el que persiste por un tiempo prolongado, lo que podría explicar algunas de las acciones tardías en el sistema nervioso central (Dickenson 1997) y se le atribuye una actividad hasta del 33% frente al compuesto original, mientras que a la norhidroketamina sólo del 1%, motivo por el que para algunos autores este metabolito es un artefacto del análisis cromatográfico (Raeder y Stenseth 2000). Estos metabolitos se conjugan y forman compuestos hidrosolubles que se excretan por la orina, pero se ha observado que la administración de diuréticos no incrementa su velocidad de eliminación. Además, debido al intenso metabolismo hepático del fármaco, una disminución de la función renal no prolonga su efecto (Lanning y Harmel 1975).

En medicina humana se han demostrado diferencias en la cinética de la distribución de la ketamina entre niños y adultos. En los niños, después de la inyección, tanto intravenosa como intramuscular, hay una absorción mucho más rápida y predecible, con niveles plasmáticos en los primeros 5 minutos tras la administración intramuscular y la acción se inicia con más rapidez, pero la duración de sus efectos es más breve y las concentraciones de norketamina en plasma son el doble (Reich y Silvey 1989). Cabe señalar que la inyección de ketamina intramuscular en personas adultas es muy impredecible y no recomendada.

La ketamina tiene un alto índice terapéutico en los animales, con una relación DL50/DE50 cinco veces mayor que la del pentobarbital. Su administración repetida no provoca el desarrollo de tolerancia ni complicación alguna (Branson 2001).

La mayoría de los efectos farmacológicos de la ketamina pueden ser antagonizados y reducidos casi inmediatamente con la administración de una mezcla de l-anfetamina y yohimbina (Hatch y Ruch 1974), y al ser ésta última un bloqueante adrenérgico α_2 específico sobre los receptores presinápticos también puede antagonizarse la ketamina por liberación central de dopamina y noradrenalina.

1.4.3.1.3. Farmacodinamia

La ketamina tiene otros efectos, además del anestésico y analgésico, sobre el SNC y sobre otros órganos y sistemas.

1.4.3.1.3.1. Efectos sobre el SNC

Durante décadas, la ketamina ha sido contraindicada en presencia de daño encefálico isquémico o en casos de masas intracraneales debido a que incrementa el ritmo metabólico cerebral de O₂ y el flujo sanguíneo hasta en un 60-80% (aunque se normaliza en unos 20-30 minutos) como resultado de un aumento de la presión de riego dependiente del incremento de la vasodilatación cerebral y disminución de la resistencia cerebro-vascular (Navarrete-Zuazo 2014); además eleva la presión del líquido cefalo-raquídeo en pacientes sin afección intracraneal (Collins 1996).

No obstante, esta suposición podría no ser enteramente correcta, ya que nuevos estudios han demostrado que la ketamina reduce la apoptosis neuronal, atenúa la respuesta inflamatoria sistémica al daño histórico y mantiene también la presión de perfusión celular como resultado de la activación del sistema nervioso simpático (Hudetz y Pagel 2010).

1.4.3.1.3.2. Efectos cardiovasculares

Uno de los principales distintivos de la ketamina, frente a otros anestésicos intravenosos, es la capacidad que posee de estimular el sistema cardiovascular. Al parecer, el fármaco tiene un efecto inotrópico negativo directo sobre el miocardio (Clanachan et al. 1976; White et al. 1982; Raeder y Stenseth 2000), pero es rebasado por efectos centrales que mimetizan el efecto de la estimulación del sistema nervioso simpático (Reich y Silvey 1989; Raeder y Stenseth 2000), que enmascara cualquier efecto depresor periférico directo sobre el sistema cardiovascular que pudiera tener la ketamina (Reves et al. 2005). Existe la evidencia de que para que estas respuestas cardiovasculares aparezcan es necesaria la presencia de un control autónomo simpático intacto y la integridad del sistema adrenérgico (Christ et al. 1997); se considera que la ketamina probablemente actúa, bien directamente estimulando los centros adrenérgicos centrales, bien indirectamente inhibiendo la admisión neuronal de catecolaminas circulantes y bloqueando su recaptación por los tejidos, especialmente la noradrenalina (Collins 1996; Hirota y Lambert 1996; Adams 1997; Schmid et al. 1999; Raeder y Stenseth 2000).

Numerosas investigaciones han descrito incrementos en el gasto cardiaco, la frecuencia cardiaca, presión arterial sistémica, resistencia vascular sistémica, presión arterial pulmonar y resistencia vascular pulmonar en la mayoría de las especies (Domino et al. 1965; Reich y Silvey 1989; Hirota y Lambert 1996). En preparaciones *in vitro* con células de miocardio canino, se ha demostrado que en altas concentraciones la ketamina deprime la contractibilidad (Reich y Silvey 1989; Raeder y Stenseth 2000).

Es poco frecuente el desarrollo de arritmias cardiacas en animales anestesiados con ketamina; así mismo la presión arterial diastólica raramente disminuye por debajo de valores preanestésicos (Hall et al. 2001). No obstante, el uso simultáneo de otros agentes anestésicos como las benzodiacepinas (diazepam, midazolam), pueden bloquear los efectos

simpaticomiméticos de la ketamina deprimiendo el sistema cardiovascular (Bidway et al. 1975; Schmid et al. 1999). La descripción de los efectos estimulantes de la ketamina ha sido tomado como una invitación a su uso en animales hipovolémicos o traumatizados y de bajo riesgo.

1.4.3.1.3.3. Efectos respiratorios

La ketamina causa depresión de la función respiratoria durante la fase inicial de la anestesia, pero se conservan las vías despejadas y sus efectos son complejos y dosis dependientes, similar al que causan los opiáceos; a bajas dosis se produce un incremento en la frecuencia respiratoria con un patrón respiratorio apneústico y una disminución del volumen corriente, mientras que dosis elevadas producen bradipnea e hipercapnia (Child et al. 1972; Evans et al. 1972; Hatch 1973; Schmid et al. 1999).

En medicina humana se utiliza en pacientes asmáticos pues disminuye la resistencia de las vías aéreas, relaja el músculo liso bronquial y antagoniza los efectos broncoconstrictores de la histamina (Vidal y Sanz 1999). Al parecer, esta acción broncodilatadora se debe al incremento en las catecolaminas circulantes (Schmid et al. 1999), pudiendo administrarse también un broncodilatador como la aminofilina antes o durante la anestesia con ketamina sin efectos adversos (Stirt et al. 1982). Además conserva el tono de los músculos esqueléticos y del diafragma, de tal forma que no se altera la mecánica respiratoria (Collins 1996).

Cuando la ketamina se utiliza como anestésico único no se alteran los reflejos protectores faríngeos y laríngeos (Lanning y Harmel 1975) y permanece el tono de los músculos mandibulares y de la lengua; además produce un aumento de la salivación, que puede prevenirse con atropina, aunque puede producir obstrucción de la vía aérea,

dificultando la visibilidad durante la intubación endotraqueal (Flecknell 2009; Branson 2001).

La conservación de estos reflejos puede provocar complicaciones durante la inducción anestésica, pues provoca un incremento en la aparición de espasmos laríngeos y bronquiales, así como accesos de tos y náuseas provocados por las secreciones o la manipulación de la orofaringe, produciendo arqueo y expulsión del tubo endotraqueal. Sin embargo, y a pesar de su presencia, al no alterarse la deglución, se puede producir aspiración traqueal de moco, saliva o cualquier material regurgitado, por lo que es conveniente la intubación (White et al. 1982).

1.4.3.1.3.4. Otros efectos

Se han descrito resultados contradictorios sobre el aumento de la presión intraocular en medicina humana y veterinaria; mientras que en la primera se ha observado un ligero aumento en la presión intraocular independiente de los cambios en la presión arterial durante la anestesia con ketamina (Yoshikawa y Murai 1971), en la segunda se observó que así como en perros la administración intravenosa o intramuscular de ketamina sola a dosis de 2-8 mg/kg no afectó significativamente la presión intraocular (Peuler et al. 1975; Ausinsch et al. 1976) o aumentó durante la anestesia con xilacina y ketamina, en équidos tiende a disminuir (Trim et al. 1985).

Estudios realizados en diferentes especies demostraron que la administración diaria de ketamina no causaba alteraciones hematológicas, urinarias, medulares ni bioquímicas en ratas, monos y perros; en éstos se observó también que la anestesia con ella en hembras preñadas en el último tercio de gestación, no producía alteraciones ni en la madre ni en los cachorros (Hall et al. 2001).

1.4.3.1.3.5. Efectos adversos

No se recomienda el uso de la ketamina sola debido a la escasa relajación muscular y a la excitación y estado cataléptico que produce, con presencia de alucinaciones y temblores musculares (Branson 2001; Sumano y Ocampo 2006; Muir et al. 2008a).

Tampoco debería de utilizarse en casos de heridas en la cabeza, pues eleva la presión del líquido cerebro espinal. Además, aunque en pacientes humanos con trastornos convulsivos no provoque convulsiones generalizadas (White et al. 1982), se ha mencionado que favorece la presentación de epilepsia (Sumano y Ocampo 2006), por lo que debería ser utilizada con precaución en animales que padecen crisis epilépticas.

La ketamina está contraindicada en animales con disfuncionalidad hepática o renal, en procedimientos de faringe, laringe o tráquea, y en pacientes con aneurisma arterial o hipertensión arterial descontrolada o con fallo cardiaco derecho o izquierdo (Branson 2001; Sumano y Ocampo 2001).

Aunque la ketamina no es abortiva, puede atravesar la placenta al igual que otros fármacos e inducir sedación en los fetos (Dodman 1979; Sumano y Ocampo 2006).

1.4.3.1.4. Uso clínico en el cerdo

La ketamina se caracteriza por su versatilidad de vías de administración, siendo las más habituales la intravenosa y la intramuscular, aunque puede administrarse también por vía oral, intranasal, transdérmica, rectal, epidural o intradural. De todas ellas, dado el carácter complicado de la especie porcina y su gran susceptibilidad al estrés, la vía de elección más apropiada para estos animales resulta la intramuscular.

La ketamina se ha utilizado con frecuencia en cerdos para procedimientos quirúrgicos y de diagnóstico de menor importancia, pero su administración sola por vía IM a dosis de 10 a 20 mg/kg produce una pobre relajación muscular y una breve duración del

efecto analgésico e induce una reacción de angustia o violencia en la mayoría de los animales acompañadas de fenómenos de ataxia, temblores musculares, rigidez extensora, jadeo, salivación y eritema (Thurmon et al. 1972; Green et al. 1981; Lin 2007). Además el despertar es a menudo brusco y muchos cerdos parecen seguir siendo sensibles a estímulos sonoros durante la anestesia (Hall et al. 2001).

En un intento de paliar estas respuestas adversas, en la especie porcina se han asociado la ketamina con tranquilizantes y sedantes, que limitan los efectos catalépticos y dejan al cerdo semi-inconsciente y relajado, aunque pueden responder todavía negativamente a estímulos dolorosos como la incisión de la pared abdominal (Kyle et al. 1979; Green et al. 1981).

Son numerosas las combinaciones de ketamina que ofrece la bibliografía revisada para su uso intramuscular en cerdos (Tabla 1.5).

El tiempo medio de inducción de la anestesia tras la administración intramuscular de ketamina sola o combinada, oscila entre los 5 y 10 minutos con un periodo de recuperación variable desde 10-30 minutos si se administra sola, hasta $60 \pm 18,6$ minutos cuando se administra combinada con meperidina, azaperona y morfina (Benson y Thurmon 1979; Branson 2001; Lin 2007). Para prolongar la anestesia se pueden administrar dosis suplementarias de ketamina por vía intramuscular (2,2-6,6 mg/kg) hasta conseguir el efecto deseado (Branson 2001; Lin 2007).

El uso de agonistas α_2 como la xilacina y la medetomidina se asocia con una depresión cardiovascular que requiere soporte de fluidos y administración de oxígeno, pero proporciona una profunda analgesia, mejora el grado de relajación muscular (Ko et al. 1993; Nishimura et al. 1994; Flecknell 2009) y puede ser acortada con una dosis de 240 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de atipamezol IV o IM (Sakaguchi et al. 1996).

Tabla 1.5. Combinaciones de la ketamina para uso intramuscular en el cerdo.

Fármacos inyectables	Dosis y Administración
Ketamina/Acepromacina	10-20 KET + 0,1-0,4 mg/kg ACE
Ketamina/Azaperona	15 mg/kg KET + 2-5 mg/kg AZA
Ketamina/Diacepam	15 mg/kg KET + 2 mg/kg DCP
Ketamina/Fentanilo-droperidol	11mg/kg KET + 1ml/13,6 kg FENT-DROP
Ketamina/Medetomidina	10 mg/kg KET + 0,2 mg/kg MED
Ketamina/Medetomidina/Butorfanol	10 mg/kg KET+ 0,08 mg/kg MED + 0,2 mg/kg BUT
Ketamina/Midazolam	33 mg/kg KET + 0,5 mg/kg MID
Ketamina/Xilacina	10-20 mg/kg KET + 2-6 mg/kg XYL
Ketamina/Xilacina/Butorfanol	10 mg/kg KET +2 mg/kg XYL +0,2mg/kg BUT
Zoletil	4-10 mg/kg ZOL
Zoletil/Xilacina	0,2-1 mg/kg XYL, a los 5 min 2-6 mg/kg ZOL

La anestesia se induce rápidamente con las dos combinaciones, pero la asociación con medetomidina parece producir una ligera estimulación cardiovascular con mínimos efectos respiratorios (Takeuchi et al. 1995) y periodos de relajación muscular y anestesia más largos que la asociación con xilacina-ketamina (Lin 2007). La combinación de oximorfina (0,075 mg/kg) con xilacina (2 mg/kg) y ketamina (2 mg/kg) mezclado en la misma jeringa supone una buena alternativa para conseguir un plano de anestesia quirúrgico si se administra de forma intravenosa, o duplicando las dosis si se inyecta intramuscular (Breese y Dodman 1984).

Se ha utilizado recientemente una combinación de ketamina (10 mg/kg), midazolam (0.2 mg/kg) y dexmedetomidina (2 µg/kg), administrada vía intramuscular para el estudio del bloqueo del nervio mandibular con bupivacaína en cerdos miniatura usados como

modelo de condilectomía (Bova et al. 2015), pero no se ha evaluado todavía la calidad de la inducción anestésica ni el grado de relajación muscular obtenido con esta combinación administrada intramuscularmente en la especie porcina.

1.5. JUSTIFICACIÓN

Dada la dificultad en el manejo de la especie porcina y su importancia como modelo de experimentación animal, la investigación de nuevos protocolos intramusculares que permitan reducir el estrés de los animales y la mejora de la investigación es primordial.

Resulta importante el conocimiento de las acciones anestésicas de los distintos agentes, así como de los parámetros fisiológicos y particularidades anestésicas del cerdo con el fin de elegir el protocolo anestésico más adecuado; pues la interacción que podrían tener estos fármacos sobre los sistemas cardiovascular y respiratorio podría inducir importantes consecuencias en el rendimiento y calidad de los estudios.

Hasta el momento de la realización de este trabajo, no se habían evaluado ni publicado estudios sobre los efectos anestésicos y cardiorrespiratorios de la alfaxalona, sola o en combinación con diazepam o dexmedetomidina, ni de la ketamina con dexmedetomidina tras su administración intramuscular en la especie porcina; sin embargo, en otras especies ya han sido evaluados y aprobados por esta misma vía (Bakker et al. 2013; Biermann et al. 2014; Tamura et al. 2015a; Rodrigo-Mocholí 2015).

2. OBJETIVOS

Objetivo principal

Evaluar y comparar la ketamina frente a la alfaxalona, solas o en combinación con diazepam o dexmedetomidina para su administración intramuscular en el cerdo.

Objetivos específicos

1. Evaluar el dolor a la inyección, el tiempo de decúbito lateral y las calidades de inducción, sedación e intubación de la administración intramuscular de la ketamina sola o en combinación con diazepam o dexmedetomidina en el cerdo.
2. Evaluar la estabilidad cardiorrespiratoria de la administración intramuscular de la ketamina sola o en combinación con diazepam o dexmedetomidina en el cerdo.
3. Evaluar el dolor a la inyección, el tiempo de decúbito lateral y las calidades de inducción, sedación e intubación de la administración de la alfaxalona sola o en combinación con diazepam o dexmedetomidina en el cerdo.
4. Evaluar la estabilidad cardiorrespiratoria de la administración de la alfaxalona sola o en combinación con diazepam o dexmedetomidina en el cerdo.

3. MATERIAL Y MÉTODO

3.1. ANIMALES

Para la realización de este trabajo, se utilizaron 42 cerdos cruce de las razas Landrace y Large White, con un peso (media \pm DS) de 21.8 ± 1.6 kg y 2 meses de edad.

Todos los animales fueron tratados de acuerdo a las normativas europeas y nacionales sobre el cuidado y la protección de los animales de experimentación (Directiva 2010/63/UE y RD53/2013). El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Experimentación Animal y el Órgano Habilitado del Instituto de Investigación Sanitaria Puerta de Hierro y autorizado por el Órgano Competente de la Comunidad Autónoma de Madrid.

Durante el periodo de cuarentena y alojamiento, los animales fueron emplazados individualmente asegurando siempre la disponibilidad de espacio según RD 53/2013. Los habitáculos fueron de paredes plásticas lisas y suelo de rejilla normalizada. Los animales fueron mantenidos en ciclos de 12h de luz y 12h de oscuridad, 20-24°C de temperatura y 50-60% de humedad relativa verificados diariamente. En todos los habitáculos se añadió material de enriquecimiento ambiental, concretamente cadenas y bolas pesadas de material rígido. La limpieza de los habitáculos, alimentación y bebida se realizó diariamente por personal debidamente entrenada y con acreditación A.

3.2. PERSONAL

Todos los procedimientos se llevaron a cabo por personal con experiencia en el manejo de animales de experimentación. La aplicación de todas las técnicas por personal debidamente capacitado y experimentado contribuyó a la reducción del nivel de sufrimiento y estrés de los animales.

La elaboración del presente proyecto ha seguido rigurosos criterios estadísticos y de diseño experimental para contribuir a la aplicación mínima de procedimientos invasivos o causantes de estrés/sufrimiento. Para ello, se ha realizado una cuidadosa elaboración del protocolo atendiendo al máximo número de variables controlables para evitar variabilidad y al mínimo número de procedimientos que ofrecen el máximo potencial de resultados posibles. Todo ello dirigido a evitar la repetición o el re-diseño de procedimientos una vez comenzado el proyecto.

3.3. METODOLOGÍA

Antes de los procedimientos, los animales fueron sometidos a un ayuno previo de 8 horas de comida, pero no de agua, desde la noche anterior.

El día del estudio los animales fueron distribuidos de manera aleatoria mediante un programa informático en 6 grupos, constituidos por 7 animales cada uno (número de animales por grupo = n). El estudio fue ciego, de tal manera que el investigador encargado de evaluar la calidad de la sedación e inducción desconocía el grupo de pertenencia del animal.

3.3.1. Grupos de estudio

Grupo (G) 1: Grupo ketamina (K) (n = 7)

A los cerdos pertenecientes a este grupo se les administró una inyección intramuscular en la musculatura lumbar de 10 mg/kg de ketamina (Imalgene® 50 mg/ml; Merial, España) (Figura 3.1) diluida en solución salina fisiológica al 0,9% (Solución salina fisiológica al 0,9%; B.Braun®, España) en una jeringa de 20 ml (Luer Slip CE0123 K, Alemania), hasta obtener un volumen de inyección de 14 ml.



Figura 3.1. Presentación comercial de la ketamina.

G2. Grupo ketamina con diazepam (KD) (n = 7)

A los cerdos pertenecientes a este grupo se les administró una inyección intramuscular en la musculatura lumbar de 10 mg/kg de ketamina y 0,5 mg/kg de diazepam (Valium® 10mg/2ml; Roche, España) (figura 3.2), mezclados en la misma jeringa de 20 ml y diluidos en solución salina fisiológica al 0,9% hasta obtener un volumen de inyección de 14 ml.

G3. Grupo ketamina con dexmedetomidina (KDX) (n = 7)

A los cerdos pertenecientes a este grupo se les administró una inyección intramuscular en la musculatura lumbar de 10 mg/kg de ketamina y 10 µg/kg de dexmedetomidina (Dexdomitor® 0.5mg/ml; Esteve, España) (figura 3.4) mezcladas en la misma jeringa de 20 ml y diluidos en solución salina fisiológica al 0,9% hasta obtener un volumen de inyección de 14 ml.



Figura 3.2. Presentación comercial del diazepam.



Figura 3.3. Presentación comercial de la dexmedetomidina.

G4. Grupo alfaxalona (A) (n = 7)

A los cerdos pertenecientes a este grupo se les administró una dosis de alfaxalona (Alfaxan® 10 mg/ml; Vetoquinol Especialidades Veterinarias, S.A, España) de 5 mg/kg intramuscular

en la musculatura lumbar, disuelta en solución salina fisiológica al 0,9% en un una jeringa de 20 ml hasta obtener un volumen de inyección de 14 ml por inyección.



Figura 3.4. Presentación comercial de la alfaxalona.

G5. Grupo alfaxalona con diazepam (AD) (n = 7)

A los cerdos pertenecientes a este grupo se les administró una inyección intramuscular en la musculatura lumbar de 5 mg/kg de alfaxalona y 0,2 mg/kg de diazepam, mezclados en una jeringa de 20 ml y diluidos en solución salina fisiológica al 0,9%, hasta obtener un volumen de inyección de 14 ml.

G6. Grupo alfaxalona con dexmedetomidina (ADX) (n = 7)

A los cerdos pertenecientes a este grupo se les administró una inyección intramuscular en la musculatura lumbar de 5 mg/kg de alfaxalona y 10 µg/kg de dexmedetomidina, mezclados en la misma jeringa de 20 ml y diluidos en solución salina fisiológica al 0,9%, hasta obtener un volumen de inyección de 14ml.

3.3.2. Procedimiento

Con el fin de evaluar el **dolor a la inyección**, se precolocó, en la musculatura lumbar, una aguja hipodérmica de 20-23G x 1TW (0.9-0.6 mm x 25 mm; BD Eclipse™, España) unida a un prolongador de línea venosa (perfusor® Leitung 150 cm B.Braun). Después de confirmar la ausencia de cualquier tipo de malestar provocado por ésta, se empezó a contabilizar el tiempo con un cronómetro (Hanhart Labor 2, Alemania) y se llevó a cabo la administración de los fármacos objetos de estudio a través de la línea de extensión en 20-30 segundos.

El **dolor a la inyección** se valoró usando una escala modificada de la de Michou et al. (2012) (Figura 3.5):

- Ausencia de dolor.
- Dolor leve: movimiento de cola y girando la cabeza hacia el lado de la inyección.
- Dolor moderado: intentos de retirar la aguja mediante el rascado de la pared.
- Dolor intenso: vocalización y gran movimiento que requiere control manual.

Durante el procedimiento fue contabilizado el tiempo hasta el decúbito lateral y evaluada la **calidad de la inducción** usando una escala modificada de la de Covey-Crump y Murison (2008) (Figura 3.5) y teniendo en cuenta la presencia o ausencia de los siguientes factores: relajación, temblores/pedaleos/cabeceos, excitación, vocalización/nistagmos, salivación/orina.

- Buena: sin signos de excitación, rápido decúbito lateral y buena relajación muscular.
- Regular: leve excitación con o sin gruñidos, espasmos musculares o movimiento de las extremidades.
- Mala: excitación marcada con o sin gruñidos, espasmos musculares, movimiento de braceo de las extremidades y movimientos de la cabeza.
- Muy mala: excitación severa y vocalización.

Fecha:
 Grupo:
 Peso:
 Dosis (mg/kg):
 Dosis (mL):

Dolor a la inyección: Si (Leve Moderado Severo)
No

Tiempo hasta decúbito esternal.....
 Tiempo hasta decúbito lateral.....

Calidad de la inducción Buena
Regular
Mala
Muy Mala

Reflejo mandibular 5 min Si No 10 min Si No
 Reflejo palpebral Si No Si No
 Reflejo corneal Si No Si No
 Capacidad de intubación Si No

Calidad de intubación Buena
Regular
Mala
Muy Mala

Grado de sedación Sin efecto
Leve
Moderato
Profundo

Parámetro	5 min	10 min
FC		
FR		
SpO ₂		
EtCO ₂		

Observaciones.....

Figura 3.5. Hoja de recogida de datos (Covey-Crump y Mursison 2008; Michou et al. 2012).

Una vez que los animales estuvieron en decúbito lateral, se evaluaron las variables fisiológicas y los reflejos mandibular, palpebral y corneal a los cinco y diez minutos después de la inyección de los fármacos. Con el fin de evaluar los diferentes parámetros fisiológicos, se procedió a la monitorización continua de la saturación de oxígeno de la hemoglobina (SpO₂) y de la frecuencia cardiaca (FC) por oximetría de pulso, utilizando una sonda colocada en la cola del animal y visualización a través del monitor (Pulsioxímetro 5250 RGM [Respiratory Gas Monitor], Ohmeda-BOC, UK) (Figura 3.6), confirmando además la

frecuencia cardiaca medida directamente sobre el animal con un estetoscopio (3MTM Littman® Classic II, España) en un minuto de tiempo.

La frecuencia respiratoria (FR) fue registrada por un lado visualizando y contabilizando los movimientos respiratorios torácicos en un minuto, y comprobada por otro lado, junto a la presión parcial de CO₂ tele-espiratorio (EtCO₂), mediante visualización en un capnómetro mainstream (EMMA™ Emergency Capnometer, Phasein AB, Suecia) (Figura 3.7), colocando el sensor mediante una máscara facial de Hall en el hocico del animal (Figura 3.8).

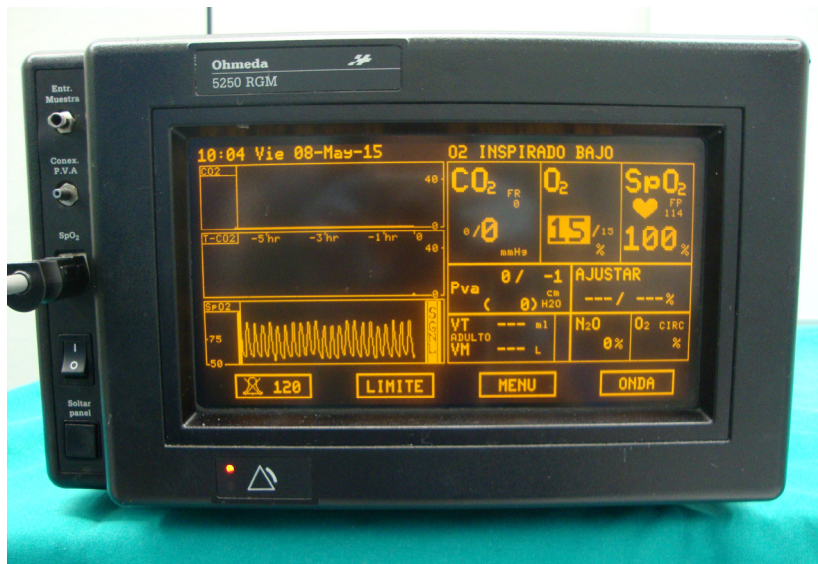


Figura 3.6. Monitor respiratorio para el registro de la SpO₂.

La apnea fue definida como el periodo de tiempo de 20 segundos sin evidencias físicas de respiración, y su duración calculada como la diferencia de tiempo entre el momento en que el animal deja de respirar y la 1ª inspiración espontánea.

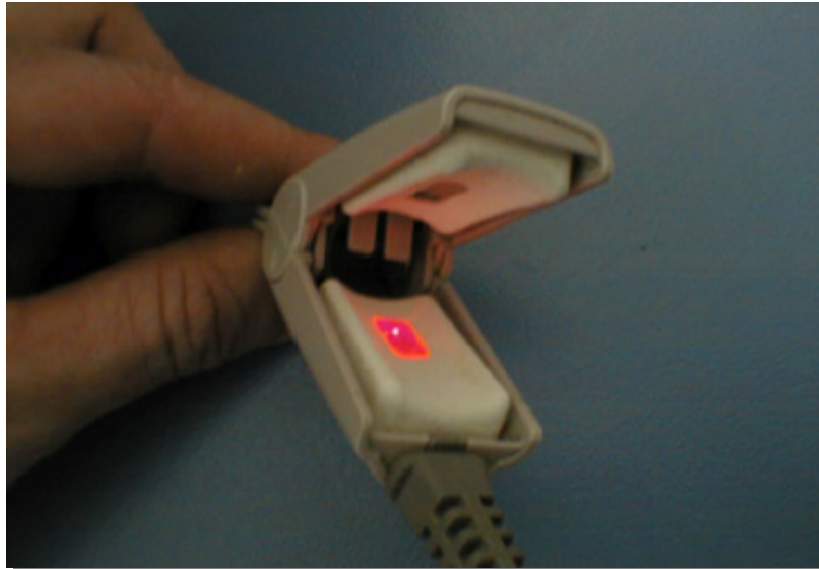


Figura 3.7. Sensor de pulsioximetría.



Figura 3.8. Capnómetro conectado a máscara de Hall para la medición de la frecuencia respiratoria y EtCO₂.

Diez minutos después de haberse administrado los fármacos y después de registrar las variables fisiológicas y los reflejos, se evaluó el **grado de sedación** en base al grado de desorientación y desconexión de su entorno usando una escala modificada de la de Covey-Crump y Murison (2008) (Figura 3.5):

- Ningún efecto.
- Sedación leve: tranquilo, reacio a moverse, pero reacciona a estímulos ruidosos.
- Sedación moderada: incapaz de moverse, no reacciona a estímulos ruidosos o físicos.

- Sedación profunda: depresión central acompañado de somnolencia y no reacciona a los estímulos ruidosos o físicos.

Durante el estudio, los animales sólo fueron estimulados para la evaluación de las variables fisiológicas y de los reflejos así como del grado de sedación.

A continuación los animales fueron transportados al quirófano, y una vez allí, en los animales que habían perdido el reflejo mandibular, se intentó la maniobra de intubación con ayuda de un laringoscopio con pala Miller (Riester, Alemania) y un tubo endotraqueal de 5 ó 6 mm de diámetro interior (Portex®; Smiths medical, UK), evaluándose la **calidad de la intubación** mediante una escala modificada de la de Covey-Crump & Mursison (2008) (Figura 3.5) como:

- Buena: sin deglución, ni tos, ni tono mandibular ni movimiento de la lengua.
- Regular: algún movimiento de la lengua y ligera tos.
- Mala: marcado movimiento de la lengua y mandíbula y deglución o tos.
- Muy mala: igual que mala y requiere además dosis adicionales de propofol y segundo intento de intubación.

En aquellos animales que no habían perdido el reflejo mandibular se les terminó de inducir con sevoflurano mediante máscara de Hall hasta que la maniobra de intubación fue posible, y se les mantuvo, como a los anteriores, con el agente inhalatorio para un procedimiento radiológico intervencionista.

3.4. ESTUDIO ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el programa informático SPSS 15.0 SPSS (Inc, Chicago, IL, EE.UU). Basándonos en los resultados observados en estudios

previos realizados por nuestro grupo (Gómez de Segura et al. 1997), se consideró apropiado un tamaño de muestra de 7 animales por grupo para detectar una diferencia igual o superior a 10 lpm en la FC, aceptando un valor de P de 0,05, un poder estadístico del 95% en un contraste bilateral, y estimando una tasa de pérdidas de seguimiento del 0%. Todos los valores de los parámetros cuantitativos medidos durante el estudio fueron agrupados y expresados como media \pm DS. Tras la confirmación de la distribución normal (test de Shapiro-Wilk), las variables fisiológicas (FC, FR, SpO₂ y EtCO₂) fueron tratadas mediante un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías y posterior comparación mediante la prueba post hoc de Bonferoni, con un intervalo de confianza del 95%. Los tiempos de decúbito lateral y apnea se analizaron mediante una prueba t para datos no apareados. Se consideró que existían diferencias estadísticamente significativas para un valor de $P < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1. EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS CUALITATIVOS

4.1.1. Dolor a la inyección

El primer factor que se ha evaluado en esta investigación es el dolor a la inyección durante la administración intramuscular de los fármacos de estudio en un tiempo de 20-30 segundos (Tabla 4.1).

En los grupos a los que se administró la alfaxalona, la mayoría de los animales no mostraron dolor a la inyección; solamente un animal en los grupos de A y AD, y dos animales del grupo ADX mostraron dolor cuando se hubo administrado la mitad de la dosis, que fue catalogado como leve, con algún movimiento ligero de cola y giro de cabeza hacia el lugar de la inyección.

Sin embargo, en los tres grupos en los que se administró ketamina, las 2/3 partes de los animales exhibieron algún grado de dolor a la administración, siendo en el grupo de K donde más significativo resultó, pues todos los animales menos uno fueron catalogados como dolor moderado, con claros intentos de quitarse la aguja mediante el rascado con la pared, aunque también en el grupo de KD 5 animales mostraron dolor leve, mientras que en el grupo KDX sólo 2 animales mostraron dolor leve.

Tabla 4.1. Valoración del dolor a la inyección.

Grupo	Nº animales que mostraron dolor / N° animales del grupo	Grado de dolor
Ketamina	7 / 7	6 Mod / 1 Leve
Ketamina-Diacepam	5 / 7	Leve
Ketamina-Dexmedetomidina	2 / 7	Leve
Alfaxalona	2 / 7	Leve
Alfaxalona-Diacepam	1 / 7	Leve
Alfaxalona-Dexmedetomidina	2 / 7	Leve

4.1.2. Tiempo de decúbito lateral

En los grupos que recibieron alfaxalona se observan diferencias estadísticamente significativas, con un menor tiempo de inducción en los grupos que recibieron diazepam o dexmedetomidina frente al grupo que recibió sólo la alfaxalona, con un valor de $p = 0,046$ en ambos casos.

Tabla 4.2. Datos estadísticos del tiempo de decúbito lateral.

Grupos	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
					K	7		
KD	7	234,0000	76,48965	28,91037	163,2589	304,7411	133,00	318,00
KDX	7	186,7143	33,70319	12,73861	155,5440	217,8845	153,00	230,00
A	7	293,5000	68,63163	28,01874	221,4755	365,5245	220,00	420,00
AD	7	202,6667	44,93403	18,34424	155,5113	249,8220	140,00	260,00
ADX	7	206,0000	35,79106	13,52775	172,8988	239,1012	150,00	248,00

Tabla 4.3. Tiempo de decúbito lateral.

Grupos	Tiempo (seg)
K	157 ± 29
KD	234 ± 76
KDX	187 ± 34
A	293 ± 69*
AD	203 ± 45 [#]
ADX	206 ± 36 [#]

Los datos están expresados como media ± DS. *Estadísticamente significativo A vs K ($p = 0,01$).
#Estadísticamente significativo AD y ADX vs A ($p = 0,046$).

Por otro lado, se aprecia un aumento estadísticamente significativo en el tiempo hasta el decúbito lateral de los animales que recibieron sólo alfaxalona frente a los que recibieron sólo ketamina ($p = 0,01$); sin embargo, en los grupos en los que se administró ketamina, aunque se observan diferencias de tiempo entre los distintos tratamientos, siendo el grupo de K el que menos tardó hasta el decúbito lateral, no son estadísticamente significativas (Tablas 4.2 y 4.3 y Figura 4.1).

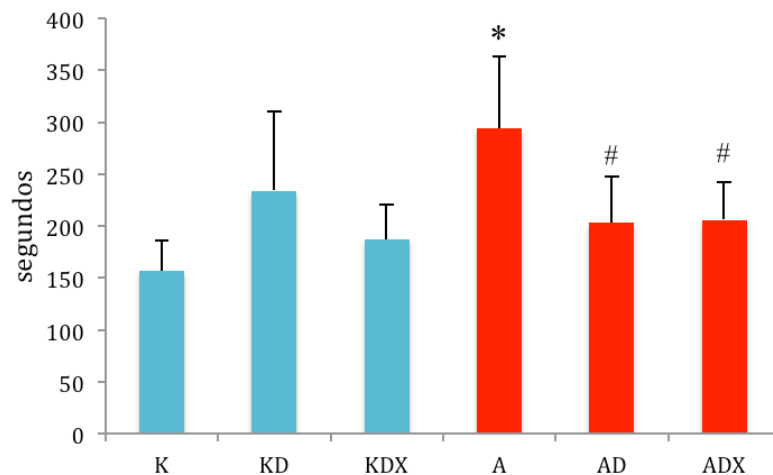


Figura 4.1. Tiempo de decúbito lateral. *Estadísticamente significativo A vs K ($p = 0,01$). #Estadísticamente significativo AD y ADX vs A ($p = 0,046$).

4.1.3. Calidad de la inducción

Para evaluar la calidad de la inducción como buena, regular, mala o muy mala, se tuvieron en cuenta la presencia o ausencia de los siguientes factores: relajación, temblores/pedaleos/cabeceos, excitación, vocalización/nistagmos, salivación/orina.

A primera vista parece que la calidad de la inducción ha sido mejor valorada entre los cerdos de los grupos a los que se administró alfaxalona, pues la mayoría de los animales tuvieron una inducción buena o regular, y sólo 3 animales tuvieron una mala inducción, frente a los que fueron sedados con ketamina, obteniendo la mayoría de éstos una calificación negativa, que fue catalogada como regular o mala, y tan sólo 3 animales mostraron una inducción que pudo ser puntuada como buena (Tabla 4.4).

De los diferentes protocolos administrados tanto con la ketamina como con la alfaxalona, es sin duda la combinación de alfaxalona con dexmedetomidina la que mejores resultados ha obtenido, pues de los 12 animales que obtuvieron la mejor valoración de la inducción, 9 habían sido tratados con algún tratamiento de alfaxalona, y de ellos, 5 pertenecían al grupo ADX. Asimismo, los 3 animales que habiendo sido sedados con algún tratamiento de ketamina obtuvieron una inducción catalogada como buena, pertenecían al grupo KDX.

Aunque la calidad de la inducción en los grupos que recibieron diacepam resultó un poco peor que los anteriores, una vez más fue la combinación con alfaxalona la que obtuvo mejores resultados, pues 2 animales tuvieron una inducción buena y los otros 5 regular, frente a la combinación con ketamina, que indujo de forma regular a 4 animales y mal a los otros 3.

Tabla 4.4. Valoración de la calidad de la inducción.

Grupos	Buena	Regular	Mala	Muy mala
K		1	6	
KD		4	3	
KDX	3	4		
A	2	2	3	
AD	2	5		
ADX	5	2		

Los grupos a los que se administró alfaxalona o ketamina solas fueron los que presentaron un mayor número de animales con temblores musculares, pedaleos, nistagmos y/o claros signos de excitación, derivando en una inducción catalogada como mala; a pesar de ello, la valoración otra vez fue más positiva en los que fueron sedados con alfaxalona, pues sólo 3 animales de este grupo obtuvieron esta calificación, mientras que en aquellos a los que se administró ketamina, todos los miembros del grupo menos uno, mostraron una inducción mala.

4.1.4. Grado de sedación

Diez minutos después de la administración de los fármacos, se realiza la evaluación del grado de la sedación, utilizando para ello la siguiente escala valorativa: sin efecto, media, moderada o profunda, teniendo en cuenta la posibilidad de manipulación y respuesta a estímulos sonoros y/o sensitivos.

Sin duda, tal y como se refleja en la tabla 4.5, son una vez más los grupos a los que se administró alfaxalona los que obtuvieron la mejor valoración, pues 13 animales alcanzaron un grado de sedación profundo, pudiendo ser manipulados y trasladados a quirófano sin responder a estímulos sensitivos y/o sonoros. De nuevo es la combinación alfaxalona con dexmedetomidina la que proporciona el grado de sedación más profundo a todos los animales de ese grupo.

No obstante, la administración de alfaxalona con diazepam o sola, también consiguieron un resultado positivo, pues 6 de los animales del grupo AD obtuvieron un grado de sedación profundo y el séptimo moderado, mientras que de los 7 cerdos que recibieron sólo alfaxalona, 5 alcanzaron un grado de sedación moderado, y el resto leve.

Tabla 4.5. Valoración del grado de sedación.

Grupo	Calidad de la sedación				Presencia de reflejos/número de animales	
	Sin efecto	Leve	Moderada	Profunda	Palpebral	Corneal
K		2	5		Si/7	Si/7
KD			7		Si/7	Si/5
KDX			5	2	Si/7	Si/7
A		2	5		Si/7	Si/7
AD			1	6	Si/7	Si/7
ADX				7	Si/7	Si/7

Sin embargo, en los grupos a los que se administró ketamina, el grado medio de sedación alcanzado en la mayoría de los animales fue un poco inferior, catalogado como moderado, tanto en los que se administró la ketamina con diazepam, en la que se logró obtener una sedación moderada en todos los miembros del grupo; como en los que recibieron la ketamina sola o combinada con dexmedetomidina, consiguiendo en este último grupo una sedación profunda en dos animales.

4.1.5. Calidad de la intubación

Para evaluar los resultados obtenidos entre los grupos de estudio, se siguió un proceso de evaluación y análisis de la intubación utilizando la escala valorativa: buena, regular, mala o muy mala, teniendo en cuenta la presencia o no de los reflejos mandibular y de deglución (Tabla 4.6).

Como se puede observar en esta tabla, de nuevo como en la calidad de la inducción, los resultados más positivos los obtiene el grupo tratado con la combinación de alfaxalona con dexmedetomidina, pues a pesar de que todos los animales mantuvieron los reflejos palpebrales y corneales durante todo el proceso, sólo uno mantuvo el reflejo mandibular. Sin embargo, de los 6

animales que perdieron el reflejo mandibular, ninguno perdió el reflejo de deglución, y la intubación sólo pudo ser realizada en un animal, siendo catalogada como regular.

Resultados parecidos pero ligeramente peores se obtuvieron en el grupo KDX, en el que también mantuvieron los reflejos palpebrales y corneales durante todo el estudio todos los animales del grupo, pero a diferencia del anterior grupo, en éste sólo 4 animales perdieron el reflejo mandibular, e igual que en el anterior grupo ninguno perdió el reflejo de deglución; sólo un animal pudo ser intubado, obteniendo también la categoría de regular.

Tabla 4.6. Valoración de la calidad de la intubación.

Grupos	Presencia de reflejos/número de animales		Posibilidad de la intubación/calidad
	Mandibular	Deglución	
K	Si/7	Si/7	No
KD	Si/7	Si/7	No
KDX	Si/3	Si/7	1/Regular
A	Si/7	Si/7	No
AD	Si/7	Si/7	No
ADX	Si/1	Si/7	1/Regular

Los peores resultados, muy negativos en el caso de la intubación, se corresponden con los cerdos a los que se les administró tanto la ketamina como la alfaxalona solas o en combinación con diazepam, manteniendo la totalidad de los animales todos los reflejos durante todo el proceso, por lo que la intubación no fue posible en ninguno de ellos, y aunque dos animales del grupo KD perdieron el reflejo corneal, tanto el palpebral como el mandibular y de deglución se mantuvieron presentes, por lo que tampoco en ellos fue posible la intubación.

4.2. EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS CARDIORRESPIRATORIOS

4.2.1. Frecuencia cardiaca

Como podemos observar en las tablas 4.7 y 4.11 y en la figura 4.2 no se han observado cambios estadísticamente significativos en ninguno de los grupos a los 5 ni 10 minutos tras la administración

de alfaxalona, sola o en combinación con diazepam o dexmedetomidina, así como de la ketamina sola o en combinación con diazepam o dexmedetomidina.

No obstante, parece que a los 10 minutos de la administración se observan diferencias de comportamiento entre los diferentes grupos, pues aumentó en los tres grupos que recibieron algún tratamiento de alfaxalona, y no así en los grupos a los que se administró ketamina.

Tabla 4.7. Valores de la FC tomados a los 5 y a los 10 minutos de la administración de los fármacos.

Grupos	5 minutos	10 minutos
K	122 ± 30	129 ± 32
KD	123 ± 13	120 ± 13
KDX	133 ± 19	137 ± 25
A	128 ± 12	129 ± 15
AD	128 ± 13	138 ± 7
ADX	127 ± 15	135 ± 12

Los datos están expresados como media (lpm) ± DS.

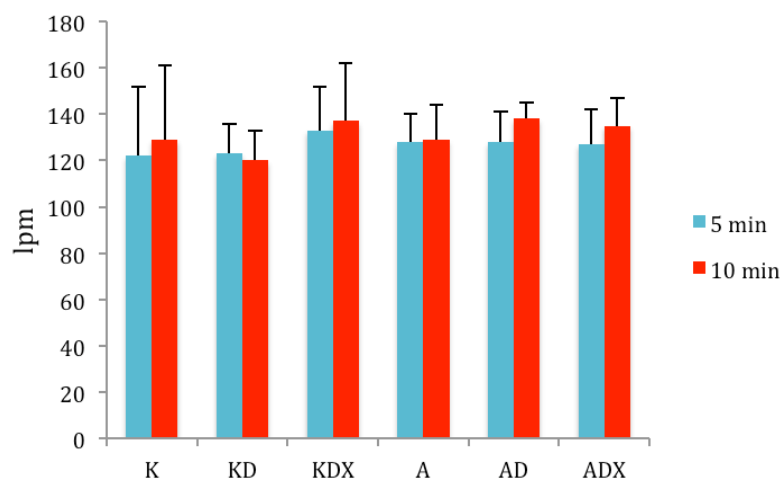


Figura 4.2. Representación gráfica de los cambios experimentados por la FC a los 5 y a los 10 minutos de la administración de los fármacos de estudio.

4.2.2. Frecuencia respiratoria

El estudio del comportamiento de la frecuencia respiratoria parece indicar que la alfaxalona, sola o en combinación con diazepam o dexmedetomidina, produce un descenso en la frecuencia respiratoria.

Como podemos observar en las tablas 4.8 y 4.12 y en la figura 4.3, todos los grupos que recibieron alfaxalona experimentaron un descenso estadísticamente significativo respecto a los grupos tratados con ketamina, tanto a los 5 minutos en el grupo al que se combinó con diazepam, como a los 10 minutos en todos los grupos.

Tabla 4.8. Valores medios de la FR tomados a los 5 y a los 10 minutos de la administración de los fármacos.

Grupos	5 minutos	10 minutos
K	45 ± 11	47 ± 16
KD	58 ± 18	51 ± 15
KDX	51 ± 15	60 ± 19
A	33 ± 8*	24 ± 6*
AD	28 ± 4	23 ± 5*#
ADX	40 ± 14	37 ± 11*#

Los datos están expresados como media (rpm) ± DS. *Estadísticamente significativo a los 5 minutos AD vs KD ($p = 0,002$), y a los 10 minutos A vs K ($p = 0,061$), AD vs KD ($p = 0,006$), y ADX vs KDX ($p = 0,023$). #Estadísticamente significativo en los grupos A ($p = 0,014$) y AD ($p = 0,014$) a los 10 minutos respecto a los 5 minutos.

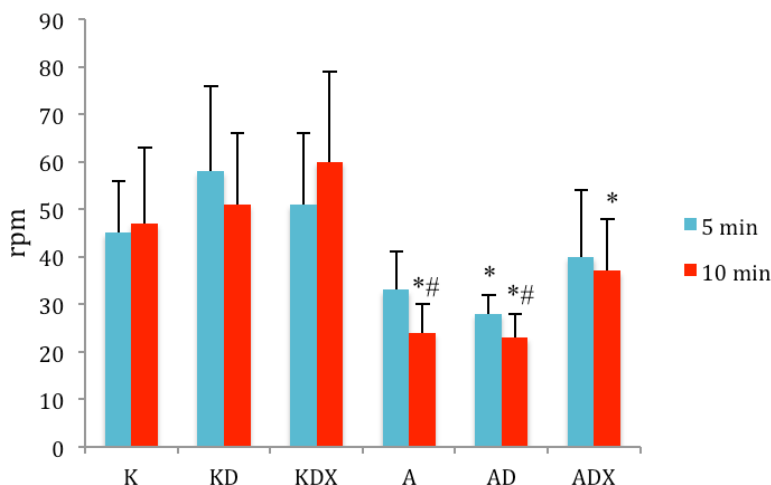


Figura 4.3. Representación gráfica de los cambios experimentados por la FR a los 5 y a los 10 minutos de la administración de los fármacos de estudio. *Estadísticamente significativo a los 5 minutos AD vs KD ($p = 0,002$), y a los 10 minutos A vs K ($p = 0,061$), AD vs KD ($p = 0,006$), y ADX vs KDX ($p = 0,023$). #Estadísticamente significativo en los grupos A ($p = 0,014$) y AD ($p = 0,014$) a los 10 minutos respecto a los 5 minutos.

Al comparar la actuación de los fármacos entre los animales del mismo grupo, podemos ver que si bien aquellos que recibieron ketamina experimentaron un aumento de la frecuencia a los 10

minutos respecto a los 5 minutos de la administración, en los animales que recibieron la alfaxalona, no sólo no aumentó la frecuencia respiratoria sino que disminuyó, aunque sólo se ha podido confirmar estadísticamente un descenso de la frecuencia respiratoria en los grupos A y AD a los 10 minutos respecto a los 5 minutos de la administración.

4.2.3. Saturación de O₂

Todos los grupos mantuvieron la SpO₂ dentro de los valores normales sin que se hayan registrado cambios estadísticamente significativos entre los diferentes grupos en ningún momento del estudio (Tablas 4.9 y 4.13 y Figura 4.4).

Tabla 4.9. Valores medios de la SpO₂ tomados a los 5 y a los 10 minutos de la administración de los fármacos.

Grupos	5 minutos	10 minutos
K	97 ± 3	97 ± 3
KD	96 ± 3	95 ± 4
KDX	95 ± 4	95 ± 4
A	96 ± 3	97 ± 3
AD	95 ± 2	96 ± 2
ADX	96 ± 4	95 ± 4

Los datos están expresados como media (%) ± DS.

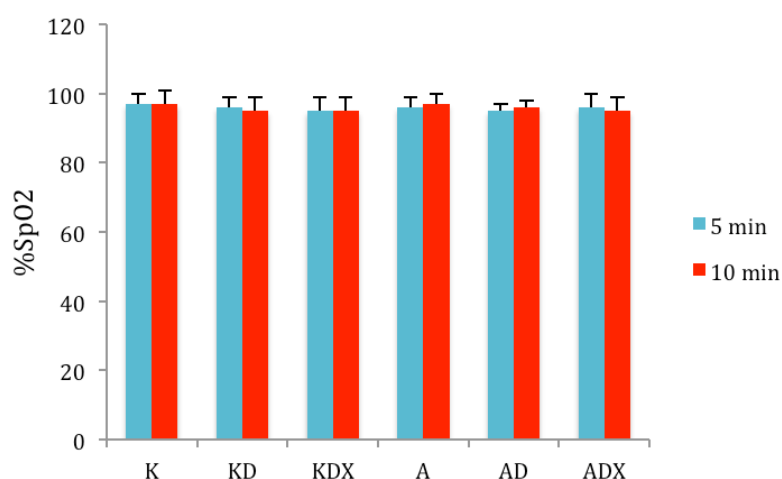


Figura 4.4. Representación gráfica de los cambios experimentados por la SpO₂ a los 5 y a los 10 minutos de la administración de los fármacos de estudio.

4.2.4. Presión parcial de CO₂ tele-espирatorio

Al igual que sucede con la SpO₂, todos los grupos mantuvieron el EtCO₂ dentro de los valores normales sin que se hayan registrado cambios estadísticamente significativos entre los diferentes grupos en ningún momento del estudio (Tablas 4.10 y 4.14 y Figura 4.5).

Tabla 4.10. Valores medios del EtCO₂ tomados a los 5 y a los 10 minutos de la administración de los fármacos.

	5 minutos	10 minutos
K	28 ± 4	27 ± 6
KD	26 ± 2	30 ± 5
KDX	29 ± 7	26 ± 6
A	32 ± 7	33 ± 3
AD	32 ± 7	32 ± 4
ADX	28 ± 10	28 ± 9

Los datos están expresados como media (mmHg) ± DS.

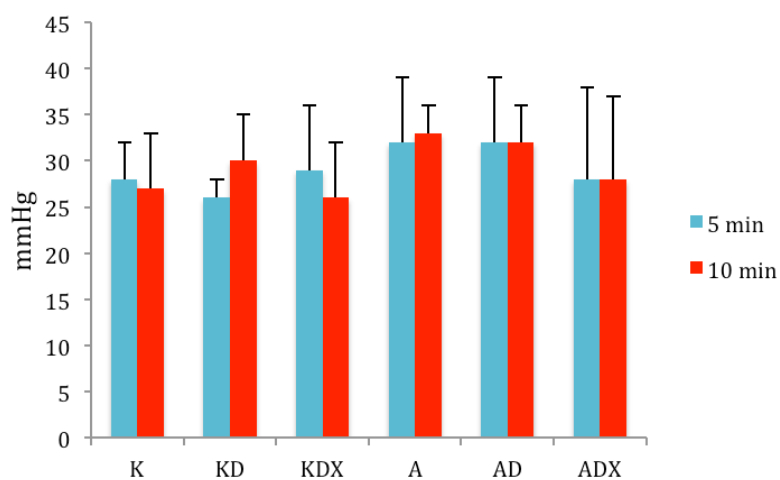


Figura 4.5. Representación gráfica de los cambios experimentados por el EtCO₂ a los 5 y a los 10 minutos de la administración de los fármacos de estudio.

Tabla 4.11. Datos estadísticos de la FC.

Grupos	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	
					Límite inferior	Límite superior		
min5	K	7	121,8333	30,24180	12,34616	90,0965	153,5702	84,00
	KD	7	123,2857	12,73727	4,81424	111,5057	135,0657	106,00
	KDX	7	133,4286	19,35508	7,31553	115,5281	151,3290	114,00
	A	7	127,6667	12,35584	5,04425	114,7000	140,6333	107,00
	AD	7	127,8333	12,78150	5,21802	114,4200	141,2467	112,00
	ADX	7	127,4286	15,25185	5,76466	113,3230	141,5342	112,00
min10	K	7	128,5000	31,67807	12,93252	95,2559	161,7441	97,00
	KD	7	120,1429	13,30950	5,03052	107,8336	132,4521	103,00
	KDX	7	137,0000	24,96664	9,43650	113,9097	160,0903	116,00
	A	7	129,1667	15,18442	6,19901	113,2316	145,1017	112,00
	AD	7	138,3333	6,71317	2,74064	131,2883	145,3784	128,00
	ADX	7	135,1429	12,13025	4,58480	123,9243	146,3615	117,00

Tabla 4.12. Datos estadísticos de la FR.

Grupos	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	
					Límite inferior	Límite superior		
min5	A	7	44,8333	10,99848	4,49011	33,2911	56,3755	34,00
	AD	7	58,2857	17,87656	6,75670	41,7527	74,8188	38,00
	ADX	7	51,0000	14,57166	5,50757	37,5235	64,4765	33,00
	K	7	32,5000	8,47939	3,46170	23,6014	41,3986	24,00
	KD	7	28,0000	4,38178	1,78885	23,4016	32,5984	24,00
	KDX	7	40,2500	13,70870	4,84676	28,7892	51,7108	20,00
min10	A	7	46,5000	16,02186	6,54090	29,6861	63,3139	22,00
	AD	7	51,0000	15,24248	5,76112	36,9031	65,0969	35,00
	ADX	7	59,5714	19,10373	7,22053	41,9034	77,2394	39,00
	K	7	24,1667	5,67157	2,31541	18,2147	30,1186	16,00
	KD	7	22,6667	5,04645	2,06020	17,3707	27,9626	16,00
	KDX	7	36,7500	10,53904	3,72611	27,9391	45,5609	18,00

Tabla 4.13. Datos estadísticos de la SpO₂.

Grupos	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media		Mínimo	
					al 95%			
					Límite inferior	Límite superior		
min5	K	7	96,6667	3,26599	1,33333	93,2392	100,0941	92,00
	KD	7	95,8571	2,91139	1,10040	93,1646	98,5497	92,00
	KDX	7	94,7143	3,72891	1,40940	91,2656	98,1630	91,00
	A	7	96,0000	2,52982	1,03280	93,3451	98,6549	93,00
	AD	7	95,0000	1,89737	,77460	93,0088	96,9912	93,00
	ADX	7	95,6250	3,81491	1,34878	92,4357	98,8143	89,00
min10	K	7	96,6667	3,77712	1,54200	92,7028	100,6305	92,00
	KD	7	95,1429	3,57904	1,35275	91,8328	98,4529	90,00
	KDX	7	94,8571	4,18045	1,58006	90,9909	98,7234	89,00
	A	7	96,6667	2,65832	1,08525	93,8769	99,4564	94,00
	AD	7	95,6667	1,63299	,66667	93,9529	97,3804	94,00
	ADX	7	95,0000	3,70328	1,30931	91,9040	98,0960	91,00

Tabla 4.14. Datos estadísticos del EtCO₂.

Grupos	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la		Mínimo	
					media al 95%			
					Límite inferior	Límite superior		
min5	K	7	28,0000	3,89872	1,59164	23,9085	32,0915	22,00
	KD	7	26,0000	2,30940	,87287	23,8642	28,1358	21,00
	KDX	7	28,8571	6,79285	2,56746	22,5748	35,1395	20,00
	A	7	31,6667	7,22957	2,95146	24,0797	39,2536	18,00
	AD	7	32,3333	6,68331	2,72845	25,3196	39,3470	22,00
	ADX	7	28,0000	9,61769	4,30116	16,0581	39,9419	22,00
min10	K	7	26,5000	6,22093	2,53969	19,9715	33,0285	19,00
	KD	7	29,5714	4,61364	1,74379	25,3045	33,8383	22,00
	KDX	7	26,1429	6,22973	2,35462	20,3813	31,9044	20,00
	A	7	32,8333	3,25064	1,32707	29,4220	36,2447	28,00
	AD	7	31,8333	4,35507	1,77795	27,2630	36,4037	24,00
	ADX	7	28,4000	9,42338	4,21426	16,6993	40,1007	23,00

5. DISCUSIÓN

5.1. LIMITACIONES DE LA METODOLOGÍA

El objetivo de nuestro trabajo fue evaluar la calidad de la inducción anestésica y el grado de sedación obtenido en cerdos de experimentación con diferentes protocolos anestésicos administrados intramuscularmente, con el fin de reducir al mínimo el estrés generado en los animales y evitar posibles complicaciones tanto para ellos como para los investigadores.

Los parámetros fisiológicos registrados en este estudio de forma no invasiva fueron FC, FR, SpO₂ y EtCO₂. La medición de otros parámetros como el volumen corriente o la presión arterial hubiera enriquecido el trabajo; sin embargo, los animales no estuvieron intubados durante el procedimiento, de tal manera que a través de una máscara de Hall no hubiese sido muy precisa la determinación del volumen corriente. Por otro lado, y dado que el registro de la presión arterial no invasiva no resulta fiable en la especie porcina, este parámetro tampoco fue registrado.

Debido a la dificultad de manejo de esta especie y su susceptibilidad al estrés, no se tomaron los valores basales, y si en algún momento hizo falta alguna referencia sobre ellos, se tomaron como referencia los datos obtenidos en un estudio previo realizado por nuestro propio equipo en cerdos de la misma especie, edad y peso (Gómez de Segura et al. 1997).

Tanto de la ketamina como de la dexmedetomidina, así como de la alfaxalona, ya existen en el mercado formas comerciales específicas para veterinaria; sólo el diazepam carece de formato comercial específico de veterinaria, y a pesar de que el midazolam es hidrosoluble y no genera dolor ni irritación en su administración intravenosa e intramuscular, se eligió el diazepam porque de las presentaciones comerciales que disponemos, el Valium[®] está a mayor concentración que el Dormicum[®], y aun siendo menor la dosis necesaria al emplear midazolam en vez de diazepam, el volumen de inyección

resultante para el peso de los animales en los que se llevó a cabo el estudio es menor con diazepam que con midazolam.

Actualmente, excepto la ketamina, tanto la dexmedetomidina (Dexdomitor[®]), como la alfaxalona (Alfaxan[®]), sólo están disponibles a concentraciones de 0,1 mg/ml ó 0,5 mg/ml en el caso de la dexmedetomidina y de 10 mg/ml en el caso de la alfaxalona, lo que genera unos volúmenes de inyección muy grandes en animales que superen los 10 kg de peso.

Al tratarse de un estudio doble ciego, y dado que el volumen de inyección necesario de la combinación de alfaxalona y diazepam era alrededor de 14 ml, se decidió diluir con suero salino fisiológico todas las jeringas con las preparaciones que se iban a utilizar hasta alcanzar el mismo volumen.

Sin embargo, el color característico del diazepam podía inducir a los investigadores que tomaban los datos a sospechar que podía tratarse de la combinación de alfaxalona o ketamina con diazepam y predisponerles en su valoración de la inducción. En el estudio de Walsh et al. (2012), se añadió vitamina B a todas las preparaciones para evitarlo. En este estudio se decidió envolver con esparadrapo la jeringa con los fármacos ya cargados, impidiendo a los investigadores responsables de la evaluación la visualización del color final de la disolución inyectada.

Por último, en las referencias bibliográficas consultadas en las que se han empleado dosis elevadas de fármacos, para reducir o evitar en la medida de lo posible el dolor a la inyección, se ha dividido la dosis total en varias jeringas que se inyectan en diferentes puntos; sin embargo, y dada la poca cooperación que muestra la especie porcina, su carácter irritable, fácilmente estresable, en ocasiones agresivo, y la dificultad de acercarse a ellos para pincharles sin causarles excesiva agitación, a pesar de utilizar un prolongador, se optó por administrar la totalidad de la dosis en el mismo punto de inyección.

5.2. EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS CUALITATIVOS

La nueva formulación de alfaxalona (Alfaxan[®]), ha demostrado producir una buena-excelente anestesia en cerdos cuando se administra vía intravenosa, permitiendo unas condiciones satisfactorias de intubación endotraqueal con pocos efectos secundarios a dosis clínicamente relevantes (0,7-0,9 mg/kg) (Keates 2003).

No se han encontrado referencias sobre la administración de alfaxalona intramuscular en cerdos, pero los estudios descritos en otras especies manifiestan sedaciones y anestésias generales con pocos efectos secundarios cuando se administra sola o combinada con otros agentes anestésicos (Bertelsen y Saucer 2011; Grubb et al. 2013; Hansen et al. 2013; Herbert et al. 2013; Huynh et al. 2015; Tamura et al. 2015a; Tamura et al. 2015b).

Los resultados de nuestro trabajo indican que la administración intramuscular de alfaxalona o ketamina, produce una leve-moderada sedación y una pobre-regular o mala calidad de inducción anestésica en cerdos sin premedicar, pero que mejora si se combina con diazepam (0,5 mg/kg) y especialmente con dexmedetomidina (10 µg/kg), logrando una anestesia buena-excelente caracterizada por una profunda sedación y una suave calidad de inducción, con pocos efectos secundarios y mínimos cambios cardiorrespiratorios.

Todos los cerdos eran clínicamente sanos y no recibían en el momento del estudio ningún tratamiento que pudiera alterar la acción de los fármacos de estudio.

5.2.1. Dolor a la inyección

A la vista de los resultados obtenidos podemos decir en términos generales que la administración tanto de alfaxalona, sola o combinada con diazepam o dexmedetomidina, y de ketamina con dexmedetomidina no producen dolor cuando se administran vía intramuscular en el cerdo en un tiempo de 20-30 segundos.

El único ingrediente activo del Alfaxán[®] es la alfaxalona, y su preparación comercial no contiene, como en el caso de la preparación comercial de la mezcla de alfaxalona-alfadolona, Cremophor EL como excipiente, el cual causa liberación de histamina (Child et al. 1971; Evans y Keogh 1977; Dodman 1980). Con el empleo de hidroxipropil- β -ciclodextrina como disolvente no se han observado dichos efectos indeseables (Estes et al. 1990). Además tiene un pH de 6,5-7, similar al sanguíneo, por lo que su administración intravenosa no causa dolor ni irritación si se administra perivasculares (Michou et al. 2012).

Si bien en el cerdo la administración intramuscular de alfaxalona, sola o combinada con otros fármacos, resulta pionera a cualquier dosis, en otras especies en las que se ha empleado sola a diferentes dosis clínicamente relevantes (aunque las dosis más altas fueron divididas en 2 ó 3 jeringas y administradas en sitios diferentes), varios animales manifestaron los mismos resultados que en nuestro estudio: leves síntomas de malestar pero sin inflamación o eritemas en la zona de inyección (Adami et al 2015; Tamura et al. 2015a; Tamura et al. 2015b), independientemente de la dosis recibida o el número de sitios de inyección.

Debido a sus propiedades ansiolíticas, amnésicas, anticonvulsiantes y de relajación muscular, la administración de diazepam es utilizada en medicina humana y veterinaria en la práctica clínica tanto para el tratamiento de estados epilépticos, como tranquilizante en los preoperatorios (Greenblatt y Shader 1974a). Sin embargo, el diazepam se solubiliza mezclándolo con propilenglicol, por lo que a pesar de que la solución inyectable tenga un pH cercano al fisiológico sanguíneo de 6,6-6,9, su administración intramuscular es dolorosa (Greenblatt y Shader 1974b; Divoll et al. 1983; Gross 2001; Muir et al. 2008a).

De los veintiún animales que constituyen los tres grupos de alfaxalona, 5 mostraron un dolor leve a la inyección, 2 en los grupos A y ADX y sólo 1 en el grupo AD, dolor que podría ser atribuido a un cambio en la velocidad de inyección.

Uno de los efectos adversos de la ketamina referidos tanto en la literatura (Branson 2001), como en la ficha técnica del producto, es el dolor o inflamación en el punto de inyección tras la administración intramuscular, debido principalmente al pH ácido (3,5) de la preparación acuosa de la ketamina. Al analizar los grupos que recibieron algún tratamiento de ketamina, si bien no han sido confirmados estadísticamente, se observó que a pesar de haber sido administrada en 30 segundos, todos los animales del grupo K menos uno, manifestaron síntomas de dolor moderado durante la administración, con intentos de sacarse la aguja mediante el rascado contra la pared y vocalizaciones, tal y como ocurre en otros estudios en la especie porcina en el que se administró a dosis de 10-20 mg/kg, con signos de angustia y eritemas en el punto de inyección (Green et al. 1981), o en primates como el tití común, en los que causa daño muscular (Davy et al. 1987; Lugo-Roman et al. 2010) con vocalizaciones y continuas miradas al punto de inyección minutos después de haberse inyectado (Bakker et al. 2013).

También observamos síntomas de incomodidad en 5 animales del grupo que fueron sedados con la clásica combinación de ketamina-diazepam.

La dexmedetomidina es el último agonista adrenérgico α_2 introducido en la práctica clínica veterinaria y sus propiedades sedantes y analgésicas lo han convertido en un útil coadyuvante de la anestesia en varias especies, entre ellas la porcina (Nunes et al. 2007; Sano et al. 2010; Pypendop et al. 2011; Adami et al. 2015; Bova et al. 2015; de Monte et al. 2015).

Estudios recientes en medicina humana y en ratas revelan otras aplicaciones de interés como reductora del dolor a la inyección producido por otros fármacos como el propofol cuando se administra vía intravenosa (He et al. 2014), y para aliviar el dolor agudo inflamatorio cuando se administra localmente (Honda et al. 2015).

En nuestro trabajo se ha podido comprobar que la administración de dexmedetomidina combinada con ketamina redujo el número de animales que mostraron algún síntoma de malestar a solamente dos, así como el grado de dolor, siendo calificado como leve, igual que el producido al combinarla con alfaxalona en dos cerdos de ese grupo, aunque tampoco en este caso ningún animal mostró inflamación ni eritema en el punto de inyección tras la administración.

5.2.2. Tiempo de decúbito lateral

Investigaciones previas con alfaxalona-alfadolona disueltas en Cremophor EL administradas por vía intramuscular en cerdos sin premedicar (Cox et al. 1975), describen la aparición de los efectos anestésico a los 5 minutos después de la administración. En nuestro estudio hemos observado que en los cerdos que recibieron sólo alfaxalona, el tiempo hasta el decúbito lateral osciló entre 4 y 7 minutos, mientras que al añadir diazepam o dexmedetomidina, el decúbito ocurría significativamente antes (2-4 minutos).

Los ensayos realizados en otras especies con alfaxalona intramuscular revelan unos tiempos de inducción de 3-8 minutos cuando se administra sola (Huynh et al. 2015; Tamura et al. 2015a; Tamura et al. 2015b) o combinada con otros agentes agonistas adrenérgicos α_2 como la medetomidina y/o el butorfanol (Marsh et al. 2009; Lee et al. 2015; Ribas et al. 2015) o la dexmedetomidina con o sin butorfanol (Adami et al. 2015; Rodrigo-Mocholí et al. 2015) como en nuestro caso, con un tiempo de inducción de 3,7 minutos.

Pese a que los animales que fueron sedados con ketamina tardaron significativamente menos en llegar al decúbito lateral respecto a los que fueron sedados con alfaxalona (2-3 minutos y 4-7 minutos respectivamente), al mezclar la ketamina con diazepam el tiempo se alargó a casi 5 minutos en algunos casos, lo que contrasta llamativamente con los tiempos manifestados por Calzetta et al. (2014) en cerdos premedicados con diazepam a una dosis de

1,5 mg/kg y ketamina a 14 mg/kg, administrados conjuntamente con atropina a 0,04 mg/kg de forma intramuscular, ya que presenta un tiempo de inducción de 18,5 minutos que triplica el nuestro a pesar de emplear dosis más elevadas que las utilizadas en nuestra investigación en animales del doble de peso que los empleados en nuestro centro.

Algunos autores han demostrado un mayor volumen de distribución del diazepam y el midazolam en personas obesas, pudiendo ser secuestrados de forma anormal en el tejido adiposo (Greenblatt et al. 1984; Gross 2001). Esta puede ser la causa de la demora del tiempo hasta el decúbito lateral tanto de los animales empleados por Calzetta et al. 2014, como del doble de tiempo (10 minutos) que tardaron los cerdos de 50 kg de peso del ensayo de Linkenhoker et al. (2010) a los que administraron 3,5 mg/kg de diazepam con 27 mg/kg de ketamina vía subcutánea, y hasta tres veces nuestro tiempo (15 minutos) en los cerdos a los que se inyectó la dosis elegida de midazolam y ketamina como la idónea para todo el estudio (0,6 y 27 mg/kg de midazolam y ketamina respectivamente).

En este mismo estudio, Linkenhoker et al. (2010) analizaron la combinación de ketamina con otros agonistas α_2 como la medetomidina, con un tiempo medio entre las dosis mínima (0,1 mg/kg de medetomidina y 5 mg/kg de ketamina subcutáneas) y máxima (0,2 mg/kg de medetomidina y 5 mg/kg de ketamina subcutáneas) empleadas hasta que la cateterización fue posible de 13,3 minutos, más del triple que en nuestra combinación de ketamina con dexmedetomidina.

No obstante, Sakaguchi et al. (1995) obtuvieron resultados parecidos a los de nuestra combinación de ketamina con dexmedetomidina después de la administración intramuscular de ketamina en cerdos de 20-22 kg de peso mezclada con medetomidina o xilacina, que muestran también un tiempo de 3-4 minutos hasta el decúbito lateral. Sin embargo de Monte et al. (2015) evidencian una significativa mayor velocidad de inducción en los cerdos que fueron sedados con tiletamina-zolazepam-metadona, en apenas un minuto desde la

administración de la mezcla, que en aquellos a los que se administró ketamina-dexmedetomidina-metadona, con un tiempo hasta el decúbito lateral de hasta casi 2 minutos.

Estos datos, mejores que los aportados en nuestro estudio, tuvieron lugar a la inversa (el grupo que recibió la combinación del agente disociativo [en nuestro caso ketamina en vez de tiletamina] con la benzodiacepina [diazepam en nuestro caso], fue el que más tardó en llegar al decúbito lateral, en algunos casos hasta 5 minutos, mientras que el grupo KDX, que recibió la combinación equivalente al estudio de Monte et al. (2015) pero sin metadona, tardó 2-4 minutos). Los resultados fueron atribuidos por un lado a que la potencia de la tiletamina es el doble que la de la ketamina (Lin 2007), y por otro lado, a la adición de la metadona, opiáceo con propiedades farmacológicas similares a la de la morfina que posee afinidad antagonista adicional para los receptores NMDA, lo que contribuye a la analgesia, reduciendo al mínimo la sensibilización del sistema nervioso central (Ebert et al. 1995) y la convierten en un fármaco atractivo para lograr sinergismo con la tiletamina o la ketamina (Himmelseher y Durieux 2005), y con las benzodiacepinas (Vinik et al. 1989).

5.2.3. Calidad de la inducción

La inducción anestésica en nuestro estudio con alfaxalona o ketamina a dosis clínicamente relevantes (5 y 10 mg/kg respectivamente), ha resultado comparativamente mejor en los animales que recibieron alfaxalona en vez de ketamina, ya que si bien la administración intramuscular de alfaxalona produce una regular o mala inducción del decúbito lateral cuando se administra sola, con bostezos y temblores musculares, la inducción con ketamina produce una marcada excitación, acompañada de pedaleos, temblores musculares, nistagmos y abundante salivación, siendo catalogada como mala.

Este estado de excitación y nerviosismo acompañado de catatonía y una marcada analgesia, es típico de la ketamina y otros derivados de la fenciclidina en la mayor parte de

las especies animales así como en la especie humana cuando se administra sola de forma intravenosa o intramuscular (Reid y Frank 1972; Thurmon et al. 1972; Green et al. 1981; Roback et al. 2006; Lin 2007; Gaertner et al. 2008; Smith y Swindle 2008; Flecknell 2009; Bakker et al. 2013).

A pesar de que la alfaxalona ha demostrado producir buenas y/o excelentes inducciones anestésicas en muchas especies, incluida la porcina, cuando se usa como único agente inductor intravenoso (Muir et al. 2009; Michou et al. 2012; del Álamo et al. 2015), bien después de la premedicación (Keates 2003; Maddern et al. 2010), o bien como coinductor (Giral et al. 2014; Walsh et al. 2015), los efectos secundarios más comunes son los temblores musculares y pedaleos durante la inducción o recuperación anestésica.

En nuestro trabajo sólo se ha evaluado la inducción anestésica; sin embargo también se han observado temblores musculares y movimiento de extremidades, acompañados de excitación y falta de relajación en varios de los animales que fueron sedados sólo con alfaxalona.

El diazepam es un relajante muscular de acción central que actúa, al igual que los neuroesteroides como la alfaxalona, sobre el receptor GABA_A, existiendo la posibilidad de interacciones significativas entre los agentes en el receptor GABA_A que pueden traducirse en una disminución de los requerimientos anestésicos de los fármacos o en la potenciación de los efectos anestésicos (Ferre et al. 2006).

Nosotros hemos observado que al combinar la alfaxalona con el diazepam se redujeron el número de animales que mostraron temblores y excitación, consiguiendo un mayor grado de relajación muscular.

Bajo nuestro conocimiento la alfaxalona sólo ha sido utilizada, de forma intravenosa a dosis de 0,7-0,9 mg/kg, en cerdos premedicados con azaperona intramuscular media hora antes de la inducción, varios de los cuales también tuvieron temblores musculares en los

músculos faciales o mandibulares durante la inducción (Keates 2003). Sin embargo, tanto ésta como su predecesora mezcla de alfaxalona/alfadolona, sí han sido empleadas y estudiadas en medicina humana y en otras especies veterinarias combinadas con diazepam o midazolam, con resultados satisfactorios e inducciones suaves sin excitación, y una calificación mejor que la misma al realizarse con ketamina-diazepam (El-Khateeb et al. 1978; Nemelecek et al. 1982; Kerr et al. 1996; Rosseti et al. 2008; Klöppel y Leece 2011; Dziki et al. 2014).

Se han descrito efectos de ataxia en animales grandes y cerdos tras la administración de diazepam (Gross 2001; Muir et al. 2008a). No obstante frecuentemente es utilizado en la especie porcina como coadyuvante de los anestésicos disociativos con el fin de evitar o reducir la rigidez muscular y las convulsiones producidas por éstos, y tanto cuando se administra intravenosa como intramuscular, muestra resultados positivos, proporcionando un grado de relajación muscular y analgesia adecuados para procedimientos menores (Benson and Thurmon 1979; Boschert et al. 1996; Flecknell 2009).

Nosotros sin embargo, obtuvimos una inducción regular en la mayoría de los animales del grupo y mala en el resto, sin temblores musculares ni pedaleos, pero con una mayor agitación acompañada de cabeceos, nistagmos y salivación en varios animales del grupo, resultando similar a los resultados cosechados por Calzetta et al. (2014) al adoptar este mismo protocolo de tranquilización en la especie porcina por vía intramuscular, informado por Li et al. (2007) y sugerido previamente por Boschert et al. (1996), que fueron en cambio similares a los recogidos en nuestro estudio, sin vómitos ni náuseas, pero con ptialismo en todos los animales del grupo.

En la investigación realizada por Linkenhoker et al. (2010) en cerdos premedicados con ketamina-diazepam, ketamina-midazolam o ketamina-medetomidina a diferentes dosis, se produjeron incidencias de actividad convulsiva y vómitos a las dosis más bajas en varias

ocasiones con las dos primeras combinaciones. Sin embargo, con la última sólo se produjeron en uno de los casos sedado con la dosis más alta.

Parece por tanto que la combinación de ketamina con agonistas adrenérgicos α_2 logra mejores resultados que con diazepam, y aunque con xilacina se consigue relajación muscular y sedación, no es suficiente, independientemente de la dosis ni vía de administración, para alcanzar un plano quirúrgico, y los cerdos todavía pueden responder a estímulos nocivos como el pinzamiento de cola o incisión de la pared abdominal (Kyle et al 1979; Green et al. 1981; Gómez de Segura et al. 1997).

En cambio, la unión de ketamina o tiletamina con dexmedetomidina o medetomidina ha demostrado producir en cerdos periodos de relajación muscular y anestesia más efectivos para procedimientos mayores como la toma de biopsias y cirugías que la combinación de xilacina-ketamina (Sakaguchi et al. 1995; Sakaguchi et al. 1996; de Monte et al. 2015), lo que corrobora nuestros resultados, obteniendo el grupo KDX la mejor puntuación de los tres grupos tratados con ketamina.

Sin embargo, la mezcla de alfaxalona con dexmedetomidina consigue mejores resultados, con una inducción catalogada como buena en casi todos los animales del grupo, con una mayor relajación muscular y menores efectos adversos como temblores o pedaleos.

Estos hechos han sido también avalados por otros trabajos con esta misma combinación en otras especies (Pinelas et al. 2014; Rodrigo-Mocholí et al. 2015).

5.1.1. Grado de sedación

Aunque los motivos por los cuales se someten a los pacientes a sedación en medicina veterinaria son diferentes a los de medicina humana, también existen riesgos y posibles complicaciones que pueden surgir durante los procedimientos, por lo que los objetivos y normas de atención para la analgesia y la sedación deben de ser los mismos, con el fin de

mantener un nivel adecuado de sedación y evitar la morbilidad e incluso la mortalidad debida a una excesiva profundidad, o por el contrario extubaciones accidentales que puedan generar complicaciones en el animal, o peligros para el profesional veterinario que maneja animales salvajes o agresivos como consecuencia de un nivel insuficiente de sedación.

El propofol y las benzodiazepinas son los agentes anestésicos más frecuentemente usados para la sedación continua en EEUU y Europa, pero los efectos neuroprotectores de la dexmedetomidina y su capacidad de reducción del número de días en sedación y de los delirios producidos durante la misma y al despertar, están incrementando su interés en anestesia y cuidados intensivos (Pandharipande et al 2007; Aracngeli et al. 2009; Riker et al. 2009; Tan y Ho 2010).

En este trabajo hemos podido comprobar que si bien el grado medio de sedación alcanzado en los grupos KD y AD fue mejor que el obtenido por los grupos K y A respectivamente, con una menor incidencia de fenómenos excitatorios, es la administración de dexmedetomidina la que proporciona los mejores resultados, tanto con ketamina, consiguiendo 5 animales un grado de sedación moderado y 2 animales un grado de sedación profundo, y todavía mejor al mezclarla con la alfaxalona, pues todos los animales del grupo alcanzaron un grado de sedación profundo, sin respuesta a estímulos sonoros y/o sensitivos y permitiendo el traslado a quirófano sin signos de excitación. No obstante, a pesar de proporcionar mayor relajación muscular que en los otros grupos de estudio y suprimir el reflejo mandibular en la mayor parte de los animales de ambos grupos, el reflejo de deglución permaneció en la totalidad de los grupos, dificultando o imposibilitando la intubación endotraqueal.

Resultados parecidos se han visto en el estudio de Linkenhoker et al. (2010) en cerdos premedicados con ketamina-midazolam y ketamina-medetomidina, frente a

ketamina-diazepam, proporcionando ésta última una peor valoración de la calidad de la sedación, con menos éxito en la cateterización y un mayor porcentaje de ensayos en los que se registraron actividad convulsiva o vómitos. Sin embargo, en el estudio realizado por de Monte et al. (2015) con ketamina-dexmedetomina-metadona y tiletamina-zolazepam-metadona, la profundidad anestésica fue mayor, permitiendo un procedimiento más doloroso como la toma de biopsia cutánea, probablemente debido al sinergismo con el opiáceo.

No obstante, la alfaxalona también ha demostrado ser un buen sedante en otras especies cuando se administra sola por vía intravenosa e intramuscular (Muir et al. 2008b; Muir et al. 2009), con un mayor porcentaje de animales que obtuvieron una sedación profunda, sin respuesta a estímulos sonoros y buena relajación mandibular (Tamura et al. 2015b); siendo mejor que la ketamina cuando se administra sola (Bakker et al. 2015).

La combinación de alfaxalona con benzodiazepinas y agonistas adrenérgicos como la dexmedetomina en otras especies veterinarias también han demostrado, como en nuestro caso, una moderada-profunda sedación con una calificación mejor que cuando se administra sola, disminuyendo los requerimientos anestésicos de ésta y permitiendo la intubación endotraqueal (Dziki et al. 2014; Pinelas et al. 2014; Rodrigo-Mocholí et al. 2015).

5.2.4. Calidad de la intubación

Se sabe que la intubación endotraqueal cuanto menos causa incomodidad en el paciente, pudiendo resultar incluso dolorosa (Hohlrieder et al. 2007), y en el cerdo esta maniobra resulta aún más difícil que en otras especies por sus características anatómicas. Este asunto es problemático porque los anestesiólogos deseamos el paso de aire notable con ventilaciones espontáneas para evitar las complicaciones de la depresión respiratoria y de la aspiración pulmonar de moco, saliva, etc. que se puede producir durante el proceso.

Determinados agentes anestésicos como la ketamina pueden complicar aún más el procedimiento, pues los reflejos oral, y de deglución permanecen intactos a todas las dosis (excepto aquellas extremadamente altas), y la salivación se incrementa (Lin 2007; Meyer y Fish 2008; Muir et al. 2008a; Flecknell 2009).

En este trabajo se han patentizado los mismos resultados, con la conservación de todos los reflejos en todos los miembros del grupo, tanto a los 5 minutos como a los 10 minutos post administración de la ketamina, por lo que la intubación no pudo ser realizada en ninguno.

Ya han sido descritas muchas medicaciones para facilitar este proceso, incluyendo anticolinérgicos, que secan las secreciones de la cavidad bucal y del tracto respiratorio (Benson y Thurmon 1979; Swindle 2007), y también con benzodiazepinas como el diazepam, que proporciona relajación muscular (Kyle et al. 1979; Green et al. 1981; Reves et al. 2005; Muir et al. 2008a).

Sin embargo, los resultados obtenidos en nuestra investigación indican que la adición de diazepam a la ketamina no ha sido suficiente para reducir los efectos indeseados de la ketamina y permitir la intubación en los animales de este grupo, ya que los reflejos mandibular y de deglución se mantuvieron en todos los animales durante todo el proceso, acompañados de abundante salivación, un resultado parecido al obtenido en el estudio de Calzetta et al. (2014), en el cual los cerdos fueron premedicados con ketamina-diazepam de forma intramuscular como en nuestro caso, pero añadiendo atropina en la misma jeringa. En esta caso la intubación fue posible debido a que además de ser inducidos con la misma combinación anestésica de forma intravenosa suplementando las dosis de diazepam y de ketamina a efecto hasta que la intubación fue posible. A pesar de ello, la calidad de la intubación fue catalogada como $3,9 \pm 0,1$ en una escala del 1 al 4, siendo uno 1 muy fácil y 4 muy difícil, con ptialismo en todos los sujetos.

En una segunda fase del estudio realizado por de Linkenhoker et al. (2010), la combinación de midazolam con ketamina fue la elegida para inducir a cerdos Yorkshire y Yucatan, sanos o con lesiones e intervención cardiovascular provocada previamente, suplementada por glicopirrolato o atropina a los 20 minutos de la administración. A pesar de ello, en los cerdos sanos, se necesitó inducir con isoflurano en 28 de los 33 ensayos efectuados en cerdos Yorkshire y en los 11 ensayos practicados en los cerdos Yucatan mientras que en los cerdos con intervención cardiovascular, para lograr intubarles fue necesario terminar la inducción con isoflurano en 9 de los 10 ensayos en cerdos Yorkshire y en 12 de 13 de los cerdos Yucatan.

Estos datos confirman los obtenidos en nuestro trabajo, ya que parece que la combinación de benzodiacepinas y ketamina resulta insuficiente para permitir la intubación endotraqueal en cerdos.

La dexmedetomidina ofrece una solución ideal para este problema, puesto que además de poseer propiedades parecidas a las benzodiacepinas como relajación muscular e hipnosis, posee efectos colaterales más beneficiosos como la creación de un campo seco para el anestesista, ya que es un antisialogogo (Penttilä et al. 2004).

En una investigación con siete personas sometidas a sedación intravenosa con dexmedetomidina y anestésico tópico orofaríngeo, todos los pacientes tuvieron una intubación con fibra óptica exitosa, y ninguno presentó evidencias de depresión respiratoria o apnea (Cooper et al. 2005).

Nuestra experiencia con la dexmedetomidina intramuscular en términos generales es buena, ya que en los tres grupos que recibieron ketamina o alfaxalona, fue la mezcla con dexmedetomidina la que proporcionó los resultados más positivos. De todos los sujetos del grupo KDX, sólo uno salvó, y aunque todos mantuvieron los reflejos de deglución, cuatro de ellos lograron la suficiente relajación muscular como para perder el reflejo mandibular.

Aun así, sólo un animal pudo ser intubado, con una calidad catalogada como regular por salivación y persistencia de los reflejos mandibular y de deglución.

En cambio, Hdralo et al. (2014) al emplear conjuntamente tiletamina-zolazepam (Telazol[®]) y dexmedetomidina intramuscular en esta misma especie, la relajación muscular que aportaron la dexmedetomidina y el zolazepam se sumaron a la inducción anestésica realizada con propofol y ketamina inyectadas en la misma jeringa a dosis efecto, facilitando la maniobra de intubación endotraqueal. Se desconoce el tamaño de los animales de este ensayo, pero es presumible que independientemente del peso, la potencia de la mezcla de los dos relajantes musculares haya sido mayor, por lo que es probable que incluso sin la inducción con ketamina-propofol pudieran haber sido intubados más fácilmente que en nuestro estudio con un solo relajante muscular.

Se ha comprobado que aunque la intubación con ketamina en suidos también es posible con otros agonistas adrenérgicos α_2 como la xilacina intramuscular (Kyle et al. 1979; Cantor et al. 1981; Trim y Gilroy 1985), la anestesia es más efectiva con una buena relajación muscular capaz de permitir y mantener la intubación endotraqueal durante 1,5 horas cuando se combina con medetomidina (Sakaguchi et al. 1995; Sakaguchi et al. 1996).

En nuestra investigación, la adición de dexmedetomidina a la alfaxalona abolió la salivación en todos los animales del grupo, y sólo uno mantuvo el reflejo mandibular, mientras que el reflejo de deglución estuvo presente durante todo el proceso de evaluación en todos los animales. A pesar de ello, la intubación sólo pudo llevarse a cabo en un cerdo, e igual que con la ketamina, fue calificada como regular.

No obstante, la adición de dexmedetomidina produjo un incremento significativo de la potencia del efecto observado con la alfaxalona en gatos premedicados vía intramuscular con alfaxalona a 5 mg/kg (A₅) o con 20 µgr/kg de dexmedetomidina (A₅D₂₀), pudiendo ser

intubados todos los gatos del grupo A₅D₂₀, así como dos animales del grupo A₅ (Rodrigo-Mocholí et al. 2015)

En un estudio reciente en perros, Pinelas et al. (2014) han evaluado la administración de diferentes dosis de dexmedetomidina (D₀ = sin dexmedetomidina, D₁ = 1 µgr/kg dexmedetomidina y D₃ = 3 µgr/kg dexmedetomidina) con metadona a 0,2 mg/kg intramuscular e inducidos posteriormente con alfaxalona intravenosa a dosis desde 1 mg/kg a efecto hasta que la relajación mandibular fue suficiente para permitir la intubación endotraqueal, cuyos resultados parece que contrastan con los obtenidos en nuestro estudio, pues revelan que la adición de dexmedetomidina en la premedicación a la dosis más elevada de 3 µgr/kg, además de reducir de forma estadísticamente significativa la dosis necesaria de alfaxalona para la intubación, a las dosis empleadas en este estudio aparentemente no afecta a la calidad global de la inducción con alfaxalona, la cual fue calificada como buena en la mayoría de los animales, independientemente de la dosis de dexmedetomidina, e incluso, el mayor número de animales que mostró una calidad buena, correspondió al grupo que sólo se premedicó con metadona. Se ha demostrado que la premedicación con opioides, metadona en este caso, puede mejorar la calidad de la anestesia y reducir la dosis necesaria de agentes inductores, en este caso la alfaxalona (Karas 1999).

Nuestros datos sin embargo, al intentar la maniobra de intubación en el grupo en el que se usó sólo alfaxalona, han sido comparativamente peores que los citados estudios, pues aun siendo mejor que los que recibieron sólo ketamina, fueron los más negativos de los 3 grupos que recibieron alfaxalona, ya que no se logró la relajación muscular a nivel general ni mandibular en ningún sujeto del grupo, y además los de deglución también permanecieron durante todo el procedimiento, por lo que la intubación no pudo llevarse a cabo en ningún animal del grupo.

A pesar de que al añadir diazepam mejoró la relajación muscular en varios animales, no hemos notado apenas diferencias en la intubación entre los grupos A y AD, y el diazepam no fue suficiente para que perdieran el reflejo de deglución ni mandibular, por lo que tampoco pudo ser intubado ningún sujeto.

Bajo nuestro conocimiento no hay referencias sobre otros estudios en los que se haya intubado a esta especie al sedarles con alfaxalona sola o con diazepam o dexmedetomidina de forma intramuscular, pero en otras investigaciones en cerdos y otras especies, la intubación endotraqueal con alfaxalona intravenosa o intramuscular se ha realizado con éxito y ha sido calificada como buena o excelente tanto cuando se ha efectuado sin premedicación (Muir et al. 2009; Giral et al. 2014; del Álamo et al. 2015) como cuando se ha efectuado con ella (Keates et al. 2003; Ambros et al. 2008; Grint et al. 2008; Maddern et al. 2010; Dziki et al. 2014; Lee et al. 2015).

5.2. EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS CARDIORRESPIRATORIOS

5.2.1. Frecuencia cardiaca

En nuestro estudio la FC se mantuvo estable en todos los grupos y fue similar a la descrita por nuestro propio grupo de trabajo para cerdos despiertos de la misma edad y peso (Gómez de Segura et al. 1997). Los cambios observados no son estadísticamente significativos, pero sí discutimos determinadas tendencias observadas.

Nuestros resultados parecen corroborar las conclusiones aportadas por diferentes publicaciones que demuestran que la ketamina IM incrementa el gasto cardiaco y la frecuencia cardiaca en cerdos y otras especies sin premedicar (Thurmon et al. 1972; Branson 2001; Swindle 2007; Muir et al. 2008a), pues los animales pertenecientes al grupo K, experimentaron una tendencia a incrementar la FC a los 10 minutos.

A pesar de que la ketamina incrementa el ritmo cardíaco y la presión arterial, el uso simultáneo de otros agentes anestésicos como el diazepam pueden bloquear los efectos simpaticomiméticos de la ketamina deprimiendo el sistema cardiovascular (Bidway et al. 1975). En medicina veterinaria esta asociación farmacológica se emplea con frecuencia tanto en especies salvajes de compañía como en la porcina, reduciendo los efectos nocivos de la ketamina y manteniendo los valores dentro de los límites fisiológicos (Muir et al. 2008a; Linkenhoker et al. 2010; Calzetta et al. 2014), de igual modo que en nuestro grupo KD.

Ha sido relatada una breve respuesta cardiovascular bifásica de la dexmedetomidina y otros agonistas adrenérgicos α_2 posterior a su administración, con una hipertensión inicial y posterior hipotensión, acompañada de bradicardia, que dura entre 5 y 10 minutos en humanos y animales cuando se administra sola o en combinación con otros fármacos, independientemente de la vía de administración (Van Zwieten y Chalmers 1994; Jalonen et al. 1995; Penttilä et al. 2004; de Monte et al. 2015).

Estos resultados contrastan con los nuestros y los de Sakaguchi et al. (1995) con el empleo IM de otros agonistas adrenérgicos α_2 como la medetomidina, ya que en los dos casos, la FC experimentó un aumento tanto a los 5 como a los 10 minutos. Esta diferencia probablemente sea debida a que al no mezclarla a la vez con otros tranquilizantes y analgésicos opiáceos como el zolazepam o la metadona como hicieron Jonalen et al. (1995) y de Monte et al. (2015), predominan los efectos estimulantes de la ketamina.

Sin embargo, cuando la dexmedetomidina se unió a la alfaxalona parece haber una ligera tendencia a la disminución en el grupo ADX respecto al grupo KDX, comportamiento similar al experimentado por la combinación de alfaxalona con dexmedetomidina o con la medetomidina en otras especies cuando se administran de forma intramuscular o intravenosa (Giral et al. 2014; Pinelas et al. 2014; Lee et al. 2015)

Por otro lado, tanto la dexmedetomidina como el diazepam tienden a incrementar la FC a los 10 minutos respecto al grupo A. Este efecto ha sido evidenciado también en otras publicaciones cuando se utiliza la alfaxalona sola tanto de forma intravenosa (Muir et al. 2009; del Álamo et al. 2015) como intramuscular (Bakker et al. 2013; Tamura et al. 2015b) o combinada con benzodiazepinas (Dziki et al. 2014) o dexmedetomidina (Pinelas et al. 2014).

5.2.2. Frecuencia respiratoria

En el presente trabajo no se han registrado incidencias de apneas en ningún animal sedado tanto con la alfaxalona como con la ketamina, solas o combinadas con diazepam o dexmedetomidina, que sin embargo han sido citadas frecuentemente en otros estudios con la alfaxalona (Ferré et al. 2006; Muir et al. 2008b; Muir et al. 2009; Seo et al. 2015) y otros agentes anestésicos como el propofol (Covey-Crump y Murison 2008).

No obstante, sí se manifestó un descenso notable de la FR en todos los grupos que fueron sedados con alfaxalona en comparación con los que fueron sedados con ketamina, resultando estadísticamente significativo a los 5 minutos en el grupo AD y a los 10 minutos en el grupo A respecto a los grupos K y KD en ese mismo momento. Además aunque todos los grupos sufrieron bradipnea a los 10 minutos en relación a los 5 minutos, esta solo fue estadísticamente significativa en los grupos A y AD.

Esta reacción de la FR era predecible de alguna manera ya que la depresión respiratoria producida por la alfaxalona ya había sido manifestada en otras publicaciones, administrada de forma intravenosa o intramuscular sola o en combinación con otros fármacos (Ambros et al. 2008; Marsh et al. 2009; Muir et al. 2009; Zaki et al. 2009; Taboada y Murison 2010), y se sabe también que el diazepam posee algún efecto depresor respiratorio (Gross 2001).

No obstante, a diferencia de otros sedantes, la dexmedetomidina causa sedación por la hiperpolarización de los receptores de norepinefrina en el locus ceruleus (Aghajanian y VanderMaelen 1982), un mecanismo similar al sueño natural que también se ha considerado en el mantenimiento de la función respiratoria.

En estudios previos en medicina humana la dexmedetomidina no causó una disminución directa en la respiración y ventilación (Bhana et al. 2000; Hall et al. 2000; Venn et al. 2000).

Los resultados obtenidos en nuestro estudio con la dexmedetomidina en la especie porcina cuando se emplea de forma intramuscular, indican que la frecuencia respiratoria no se ve modificada de forma significativa cuando se une tanto a la ketamina como a la alfaxalona, aunque en ambos tratamientos produce una elevación de la frecuencia respiratoria comparada con la ketamina o la alfaxalona solas o mezcladas con diazepam tanto a los 5 como a los 10 minutos post administración.

Este incremento de la FR, más pronunciado en el grupo KDX que en el grupo ADX, es debido probablemente a los efectos de la ketamina que ya han sido demostrados en otras investigaciones tanto en la especie porcina como en otras especies veterinarias, independientemente de la vía de administración e incluso cuando se combina con otros agonistas adrenérgicos α_2 como la medetomidina (Benson y Thurmon 1979; Sakaguchi et al. 1995; Linkenhoker et al. 2010; Bakker et al. 2015).

En el estudio realizado en cerdos por de Monte et al. (2015) con las combinaciones de ketamina-dexmedetomidina-metadona o tiletamina-zolazepam-metadona, al igual que en nuestro estudio se hace patente también el predominio de los efectos de los derivados de la fenciclidina sobre el efecto depresor respiratorio del diazepam, pues la frecuencia respiratoria aumenta en los dos grupos a pesar de la benzodiacepina.

5.2.3. Saturación de O₂

Aunque el pulsioxímetro no asegura la adecuada utilización tisular de oxígeno ni sustituye la medida de los gases en sangre, se considera de modo general que un paciente con una saturación de hemoglobina igual o mayor al 90% no sufrirá daño encefálico hipóxico ni isquemia en otros órganos.

En esta investigación no se ha realizado la medición de oxigenación arterial, pero los valores de saturación de oxígeno medidos por el pulsioxímetro se han mantenido durante todo el procedimiento entre el 95-97%, tanto en los grupos sedados con la alfaxalona como en los sedados con la ketamina, no siendo necesario el aporte de oxígeno suplementario en ninguno de ellos.

En el estudio realizado por de Monte et al. (2015) con tiletamina, se ha podido apreciar un descenso de la SpO₂ cuando se añadió una benzodiacepina, estadísticamente significativo respecto a los cerdos de ese mismo estudio que fueron sedados con ketamina y dexmedetomidina.

La alfaxalona produce una leve depresión respiratoria cuando se administra tanto de forma intravenosa como intramuscular (Muir et al. 2009; Tamura et al. 2015b), pero sus consecuencias son de poca relevancia clínica, manteniendo constante la saturación de oxígeno.

En nuestro trabajo, la SpO₂ se mantuvo dentro de los valores normales sin que se registrasen cambios estadísticamente significativos entre los diferentes grupos en ningún momento del estudio, manteniéndose en todos los casos por encima o igual al 95%.

Este porcentaje es similar al reportado por otros investigadores al utilizar la alfaxalona en cerdos premedicados con otro grupo de tranquilizantes como la azaperona (Keates 2003) y superior al de otras especies en cuando se combina con los mismos grupos

de tranquilizantes como las benzodiazepinas y agonistas α_2 como la dexmedetomidina o la medetomidina (Marsh et al. 2009).

5.2.4. Presión parcial de CO₂ tele-espiratorio

A falta de la medición de la PaCO₂ y del volumen minuto, el CO₂ tele-espiratorio (EtCO₂), es quizá la mejor herramienta para indicar de forma rápida la funcionalidad del sistema respiratorio.

En nuestro trabajo, la administración intramuscular de la ketamina o de la alfaxalona solas y en combinación con diazepam o dexmedetomidina, no producen cambios significativos en el EtCO₂. A pesar de que este hecho se produce también en otros estudios con ketamina o alfaxalona solas o en combinación con los mismos o diferentes grupos de tranquilizantes que los nuestros, tanto los valores de PaCO₂ como del EtCO₂ aportados por éstos, oscilan entre 35 y 50 mmHg, superiores a los registrados por nosotros (Sakaguchi et al. 1995; Keates 2003; Walsh et al. 2012; Giral et al. 2014; de Monte et al. 2015; Rodrigo-Mocholí et al. 2015). No obstante, a diferencia de aquellos, en nuestro trabajo los animales no fueron intubados, y el EtCO₂ fue medido con un capnómetro unido a una máscara de Hall, donde pudo haberse mezclado con gas inspiratorio ambiental. La estabilidad observada en el EtCO₂ no se relaciona con los cambios observados en la FR; presumiblemente, debido a cambios en el volumen corriente.

Pese a ello, en esta investigación no se han observado patrones de respiración anómalos durante todo el proceso, que sí han sido relatados en otros ensayos con alfaxalona, sola o con dexmedetomidina y otros agonistas α_2 (Pearson et al. 2006; Muir et al. 2008b; Muir et al. 2009; Pinelas et al. 2014).

6. CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos y bajo las condiciones de realización del presente estudio, se pueden obtener las siguientes conclusiones:

1. La administración intramuscular de alfaxalona en el cerdo no produce irritación ni dolor. La adición de dexmedetomidina reduce notablemente la incidencia y grado de dolor producido por la ketamina.
2. La inducción anestésica con alfaxalona se produce más tarde que con ketamina; sin embargo, cuando la alfaxalona se combina con diazepam o dexmedetomidina se reduce el tiempo de inducción.
3. El mayor grado de sedación observado se produce cuando la ketamina o la alfaxalona se combinan con dexmedetomidina; y aunque la relajación muscular proporcionada es mayor, el reflejo de deglución permanece, dificultando o imposibilitando la intubación endotraqueal.
4. Todos los fármacos y sus combinaciones tuvieron poca o ninguna incidencia sobre los parámetros cardiorrespiratorios.
5. A pesar de que la combinación de alfaxalona con dexmedetomidina resulta útil y aconsejable como agente preanestésico en la especie porcina, el volumen de inyección intramuscular necesario de la alfaxalona puede limitar su uso a cerdos de pequeño tamaño.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Abed KK, Hussein AA, Ghareeb MM, Abdulrasool AA (2010) Formulation and optimization of orodispersible tablets of diazepam. *AAPS PharmSciTech* 11, 356-361.
- Acikgöz A, Giri S, Bader A (2012) Detection of nanolevel drug metabolites in an organotypic culture of primary human hepatocytes and porcine hepatocytes with special reference to a two-compartment model. *Int J Nanomedicine* 7, 5859-5872.
- Adami C, Imboden T, Giovannini AE, Spadavecchia C (2015) Combinations of dexmedetomidine and alfaxalone with butorphanol in cats: application of an innovate stepwise optimization method to identify optimal clinical doses for intramuscular anaesthesia. *J Feline Med Surg*, pii: 1098612X15596563.
- Adams HA (1997) S-(+)-ketamine: Circulatory interactions during total intravenous anesthesia and analgesia-sedation. *Anaesthesist* 46, 1081-1087.
- Adams HR (2001) Agonistas y antagonistas adrenérgicos. En: *Farmacología y terapéutica veterinaria* (2nd edn). Adams HR (eds). Acribia S.A, Zaragoza, España, pp 93-120.
- Aghajanian GK, VanderMaelen CP (1982) Alpha 2-adrenoceptor-mediated hyperpolarization of locus coeruleus neurons: intracellular studies in vivo. *Science* 215, 1394-1396.
- Ahlquist RP (1948) A study of the adrenotropic receptors. *Am J Physiol* 153, 586-600.
- Albertson TE, Walby WF, Joy RM (1992) Modification of GABA-mediated inhibition by various injectable anesthetics. *Anesthesiology* 77, 488-499.
- Ambros B, Duke-Novakovski T, Pasloske KS (2008) Comparison of the anesthetic efficacy and cardiopulmonary effects of continuous rate infusions of alfaxalone-2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin and propofol in dogs. *Am J Vet Res* 69, 1391-1398.
- Arendt RM, Greenblatt DJ, deJong RH, Bonin JD, Abernethy DR, Ehrenberg BL, Giles HG, Sellers EM, Shader RI (1983) In vitro correlates of benzodiazepine cerebrospinal fluid uptake, pharmacodynamic action and peripheral distribution. *J Pharmacol Exp Ther* 227, 98-106.
- Arias-Montaña JA (1994) Proteínas G y transducción de señales celulares. *Bol Soc Mex Cien Fisiol* 1, 10-17.
- Asai T, Mapleson WW, Power I (1997) Differential effects of clonidine and dexmedetomidine on gastric emptying and gastrointestinal transit in the rat. *Br J Anaesth* 78, 301-307.
- Aston-Jones G, Cohen JD (2005) An integrative theory of locus coeruleus-norepinephrine function: adaptative gain and optimal performance. *Annu Rev Neurosci* 28, 403-450.
- Ausinsch B, Rayburn RL, Munson ES, Levy NS (1976) Ketamine and intraocular pressure in children. *Anesth Analg* 55, 773-775.
- Backus KH, Arigoni M, Drescher U, Scheurer L, Malherbe P, Mohler H, Benson JA (1993) Stoichiometry of a recombinant GABAA receptor deduced from mutation-induced rectification. *Neuroreport* 5, 285-288.
- Bakker J, Uilenreef JJ, Pelt ER, Brok HP, Remarque EJ, Langermans JA (2013) Comparison of three different sedative-anaesthetic protocols (ketamine, ketamine-medetomidine and alfaxalone) in common marmosets (*Callithrix jacchus*). *BMC Vet Res* 9, 113.

- Barletta M, Austin BR, Ko JC, Payton ME, Weil AB, Inoue T (2011) Evaluation of dexmedetomidine and ketamine in combination with opioids as injectable anesthesia for castration in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 238, 1159-1167.
- Barnes GN y Slevin JT (2003) Ionotropic glutamate receptor biology: Effect on synaptic connectivity and function in neurological disease. *Curr Med Chem* 10, 2059-2072.
- Bell RF (1999) Low-dose subcutaneous ketamine infusion and morphine tolerance. *Pain* 83, 101-103.
- Belleville JP, Ward DS, Bloor BC, Maze M (1992) Effects of intravenous dexmedetomidine in humans. I. Sedation, ventilation, and metabolic rate. *Anesthesiology* 77, 1125-1133.
- Benke D, Fritschy JM, Trzeciak A, Bannwarth W, Mohler H (1994) Distribution, prevalence, and drug binding profile of gamma-aminobutyric acid type A receptor subtypes differing in the beta-subunit variant. *J Biol Chem* 269, 27100-27107.
- Benson GJ y Thurmon JC (1979) Anesthesia of swine under field conditions. *J Am Vet Med Assoc* 174, 594-596.
- Bertelsen MF y Saucer CD (2011) Alfaxalone anaesthesia in the green iguana (*Iguana iguana*). *Vet anaesth Analg* 38, 461-466.
- Berthelson S, Pettinger WA (1977) A functional basis for classification of alpha-adrenergic receptors. *Life Sci* 21, 595-606.
- Bhana N, Goa KL, McClellan KJ (2000) Dexmedetomidine. *Drugs* 59, 263-268.
- Bidwai AV, Stanley HT, Graves CL, Kawamura R, Sentker CR (1975) The effects of ketamine on cardiovascular dynamics during halothane and enflurane anesthesia. *Anesth Analg* 54, 588-592.
- Blitt CD (1983) Clinical pharmacology of lorazepam. *Contemp Anesth Pract* 7, 135-145.
- Bol CJG, Danhof M, Stanski DR, Mandema JW (1997) Pharmacokinetic-pharmacodynamic characterization of the cardiovascular, hypnotic, EEG and ventilatory responses to dexmedetomidine in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 283, 1051-1058.
- Bol CJG, Vogelaar JPW, Mandema JW (1999) Anesthetic profile of dexmedetomidine identified by stimulus-response and continuous measurements in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 291, 153-160.
- Boschert K, Flecknell PA, Fosse RT, Framstad T, Ganter M, Sjstrand U, Stevens J, Thurmon J (1996) Ketamine and its use in the pig. *Lab Anim* 30, 209-212.
- Bova JF, da Cunha AF, Stout RW, Bhumiratana S, Alfi DM, Eisig SB, Vunjak-Novakovic G, Lopez MJ (2015) Bupivacaine mandibular nerve block affects intraoperative blood pressure and heart rate in a Yucatan miniature swine mandibular condylectomy model: a pilot study. *J Invest Surg* 28, 32-39.
- Bowery NG y Smart TG (2006) GABA and glycine as neurotransmitters: a brief history. *Br J Pharmacol* 147, S109-19.
- Branson KR (2001) Anestésicos inyectables. En: *Farmacología y terapéutica veterinaria* (2nd edn). Adams HR (eds). Acribia S.A, Zaragoza, España, pp 225-281.
- Branson KR (2007) Injectable and Alternative Anesthetic Techniques. En: *Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia* (4th edn). Tranquilli WJ, Thurmon JC, Grimm KA (eds). Blackwell Publishing, Iowa, USA, pp 273-300.
- Breese CE, Dodman NH (1984) Xylazine-ketamine-oxymorphone: An injectable anesthetic combination in swine. *J Am Vet Med Assoc* 184, 182-183.
- Brewster ME (1991) The potential use of cyclodextrins in parenteral applications. *J parent SciTechnology* 43, 231-240.

- Brewster ME, Estes KS, Bodor N (1989) Development of a non-surfactant formulation for alfaxalone through the use of chemically-modified cyclodextrins. *J Parenter Sci Technol* 43, 262–265.
- Brock N, Hildebrand SV (1990) A comparison of xylazine-diazepam-ketamine and xylazine-guaifenesin-ketamine in equine anesthesia. *Vet Surg* 19, 468-474.
- Buisman M, Wagner MC, Hasiuk MM, Prebble M, Law L, Pang DS (2015) Effects of ketamine and alfaxalone on application of a feline pain assessment scale. *J Feline Med Surg*, doi:10.1177/1098612X15591590.
- Bustamante R, Valverde A (1997) Determination of a sedative dose and influence of droperidol and midazolam on cardiovascular function in pigs. *Can J Vet Res* 61, 246–250.
- Bylund DB (1985) Heterogenicity of alpha-2 adrenergic receptors. *Pharmacol Biochem Behav* 22, 835-843.
- Bylund DB, Blaxall HS, Iversen LJ, Caron MG, Lefkowitz RJ, Lomasney JW (1992) Pharmacological characteristics of alpha 2-adrenergic receptors: comparison of pharmacologically defined subtypes with subtypes identified by molecular cloning. *Mol Pharmacol* 42, 1-5.
- Bylund DB, U'Prichard DC (1983) Characterization of alpha-1 and alpha-2 adrenergic receptors. *Int Rev Neurobiol* 24, 343-431.
- Caballero E y Ahumada E (2002) Fármacos tranquilizantes. En: *Farmacología y terapéutica veterinaria* (1st edn). Botana LM, Landoni MF, Martín-Jiménez T (eds). Mc Graw Hill, Madrid, España, pp 158-168.
- Calzetta L, Rossi P, Bove P, Alfonsi P, Bonizzi L, Roncada P, Bernardini R, Ricciardi E, Montuori M, Pistocchini E, Mauti P, Mattei M (2014) A Novel and Effective Balanced Intravenous-Inhalant Anaesthetic Protocol in Swine by Using Unrestricted Drugs. *Exp Anim* 63, 423–433.
- Cantor GH, Brunson DB, Reibold TW (1981) A comparison of four short-acting anesthetic combinations for swine. *Vet Med Small Anim Clin* 76, 715-720.
- Cardona EF, Nova HA (2003) Anestesia disociativa. En: *Anestesiología para médicos generales* (1st edn). Cardona EF, Pacheco M, Giraldo OL (eds). Universidad de Antioquía, Colombia, pp 140-150.
- Chang Y, Wang R, Barot S, Weiss DS (1996) Stoichiometry of a recombinant GABAA receptor. *J Neurosci* 16, 5415-5424.
- Chen G, Ensor C (1968) 2-(Ethylamino)-2-(2-Thienyl) cyclohexanone-HCl (CI-634): a taming, incapacitating, and anesthetic agent for the cat. *Am J Vet Res* 29, 863-867.
- Chenu C, Serre CM, Raynal C, Burt-Pichat y Delmas PD (1998) Glutamate receptors are expressed by bone cells and are involved in bone resorption. *Bone* 22, 295–299.
- Cherezov V, Rosenbaum DM, Hanson MA, Rasmussen SG, Thian FS, Kobilka TS, Choi HJ, Kuhn P, Weis WI, Kobilka BK, Stevens RC (2007) High-resolution crystal structure of an engineered human β 2-adrenergic G protein-coupled receptor. *Science* 318, 1258–1265.
- Child KJ, Currie JP, Davis B, Dodds MG, Pearce DR, Twissell DJ (1971) The pharmacological properties in animals of CT1341: a new steroid anaesthetic agent. *Br J Anaesth* 43, 2-13.

- Child KJ, Davis B, Dodds MG, Twissell DJ (1972) Anaesthetic, cardiovascular and respiratory effects of a new steroidal agent CT 1341: a comparison with other intravenous anaesthetic drugs in the unrestrained cat. *Br J Pharmacol* 46, 189-200.
- Chizh BA, Headley PM (1996) Thyrotropin-releasing hormone facilitates spinal nociceptive responses by potentiating NMDA receptor-mediated transmission. *Eur J Pharmacol* 300, 183-189.
- Christ G, Mundigler G, Merhaut C, Zehetgruber M, Kratochwill C, Heinz G, Siostrzonek P (1997) Adverse cardiovascular effects of ketamine infusion in patients with catecholamine-dependent heart failure. *Anaesth Intensive Care* 25, 255-259.
- Clanachan AS, McGrath JC, MacKenzie JE (1976) Cardiovascular effects of ketamine in the pithed rat, rabbit and cat. *Br J Anaesth* 48, 935-939.
- Collins VJ (1996) *Anestesiología: anestesia general y regional* (3rd edn), McGraw-Hill México DF, México.
- Conn PJ y Pin JP (1997) Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. *Annu rev pharmacol toxicol* 37, 205-237.
- Conti F, Minelli A, Melone M (2004) GABA transporters in the mammalian cerebral cortex: localization, development and pathological implications. *Brain Res Brain Res Rev* 45, 196-212.
- Cooper L, Samson R, Gallagher C, Barron m, Hitchen K, Candiotti K, Silverman R (2005) Dexmedetomidine provides excellent sedation for elective, awake fiberoptic intubation. *Anesthesiology* 103, 1149 (Abstract).
- Correa-Sales C, Nacif-Coelho C, Reid K, Maze M (1992) Inhibition of adenylate cyclase in the locus coeruleus mediates the hypnotic response to an alpha-2 agonist in the rat. *J Pharm Exp Ther* 263, 1046-1049.
- Covey-Crump GL, Mursison PJ (2008) Fentanyl or midazolam for co-induction of anaesthesia with propofol in dogs. *Vet Anaesth Analg* 35, 463-472.
- Cox JE, Done SH, Lees P, Walton JR (1975) Preliminary studies of the actions of alphaxalone and alphadolone in the pig. *Vet Rec* 97, 497-498.
- Cuesta MJ, Bornay B, Vaquero LM (2003) Ketamina oral: alternativa válida en el tratamiento del dolor facial atípico. A propósito de un caso. *Rev Soc Esp Dolor* 10, 188-190.
- Dale HH (1935) Pharmacology and nerve endings. *Proc R Soc Med* 28, 319-332.
- Darlison MG, Albrecht BE (1995) GABA_A receptor subtypes: which, where, and why?. *The Neurosciences* 7, 115-126.
- Das S, Sasaki YF, Rothe T, Premkumar LS, Takasu M, Crandall JE, Dikkes P, Conner DA, Rayudu PV, Cheung W, Chen HS, Lipton SA, Nakanishi N (1998) Increased NMDA current and spine density in mice lacking the NMDA receptor subunit NR3A. *Nature* 393, 377-381.
- Davy CW, Trennery PN, Edmunds JG, Altman JF, Eichler DA (1987) Local myotoxicity of ketamine hydrochloride in the marmoset. *Lab Anim* 21, 60-67.
- Dayton PG, Stiller RL, Cook DR, Perel JM (1983) The binding of ketamine to plasma proteins: emphasis on human plasma. *Eur J Clin Pharmacol* 24, 825-831.
- de Jong RH, Bonin JD (1981) Benzodiazepines protect mice from local anesthetic convulsions and deaths. *Anesth Analg* 60, 385-389.

- De Monte V, Staffieri F, Di Meo A, Vannucci J, Bufalari A (2015) Comparison of ketamine-dexmedetomidine-methadone and tiletamine-zolazepam-methadone combinations for short-term anaesthesia in domestic pigs. *Vet J* 205, 364-368.
- De Wolf AM, Fragen RJ, Avram MJ, Fitzgerald PC, Rahimi-Danesh F (2001) The Pharmacokinetics of Dexmedetomidine in Volunteers with Severe Renal Impairment. *Anesth Analg* 93, 1205-1209.
- Del Álamo AM, Mandsager RE, Riebold TW, Payton ME (2015) Evaluation of intravenous administration of alfaxalone, propofol, and ketamine-diazepam for anesthesia in alpacas. *Vet Anaesth Analg* 42, 72-82.
- Dickenson AH (1997) NMDA receptor antagonists: interactions with opioids. *Acta Anaesth Scand* 41, 112-115.
- Dingledine R, Conn JP (2000) Peripheral glutamate receptors: Molecular biology and role in taste sensation. *J Nutr* 130, 1039S-1042S.
- Directiva 2010/63/UE de 22 de septiembre de 2010, relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos. L n° 276, miércoles 20/10/2010.
- Divoll M, Greenblatt DJ, Ochs HR, Shader RI (1983) Absolute bioavailability of oral and intramuscular diazepam: effects of age and sex. *Anesth Analg* 62, 1-8.
- Dodman NH (1979) Anaesthesia for Caerarean section in the dog and cat: a review. *J Small Anim Pract* 20, 449-460.
- Dodman NH (1980) Complications of saffan anaesthesia in cats. *Vet Rec* 107, 481-483.
- Domino EF, Choddof P, Corssen G (1965) Pharmacologic effects of CI-581, a new dissociative anaesthetic in man. *Clin Pharmacol Ther* 6, 279-291.
- Doze VA, Chen BX, Maze M (1989) Dexmedetomidine produces a hypnotic-anesthetic action in rats via activation of central alpha-2 adrenoceptors. *Anesthesiology* 71, 75-79.
- Dubocovich ML (1984) Presynaptic alpha-adrenoceptors in the central nervous system. *Ann N Y Acad Sci* 430, 7-25.
- Dubocovich ML, Langer SZ (1974) Negative feed-back regulation of noradrenaline release by nerve stimulation in the perfused cat's spleen: Differences in potency of phenoxybenzamine in blocking the pre- and post-synaptic adrenergic receptors. *J Physiol* 237, 505-519.
- Dubrovsky BO (2005) Steroids, neuroactive steroids and neurosteroids in psychopathology. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 29, 169-192.
- Dutta S, Lal R, Karol MD, Cohen T, Ebert T (2000) Influence of cardiac output on dexmedetomidine pharmacokinetics. *J Pharm Sci* 89, 519-527.
- Dyck JB y Shafer SL (1993) Dexmedetomidine pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Anesth Pharm Review* 1, 238-245.
- Dyck JB, Maze M, Haack C, Azarnoff DL, Vuorilehto L, Shafer SL (1993) Computer-controlled infusion of intravenous dexmedetomidine hydrochloride in adult human volunteers. *Anesthesiology* 78, 821-828.
- Dyson DH, Allen DA, Ingwersen W, Pascoe PJ, O'grady M (1987) Effects of Saffan on cardiopulmonary functions in healthy cats. *Can J Vet Res* 51, 236-239.
- Dziki TB, Zeiler GE, Dziki LN, García ER (2014) The effects of midazolam and butorphanol administered alone or combined, on the dose and quality of anaesthetic induction with alfaxalone in goats. *J S Afr Vet Assoc* 85, 1047.
- Easley RB, Brady KM, Tobias JD (2007) Dexmedetomidine for the treatment of postanesthesia shivering in children. *Paediatr Anaesth* 17, 341-346.

- Ebert B, Andersen S, Krogsgaard-Larsen P (1995) Ketobemidone, methadone and pethidine are non-competitive N-methyl-D-aspartate (NMDA) antagonists in the rat cortex and spinal cord. *Neurosci Lett* 187, 165-168.
- El-Khateeb MS, El-Domiaty C, Saleh AA, Taha A (1978) Potentiation of propanidid, ketamine and althesin anaesthesia by diazepam. *J Egypt Med Assoc* 61, 569-575.
- Errando CL (2002) Ketamine: anything new about this drug? *Rev Esp Anestesiología Reanimación* 49, 389-390.
- Errando CL, Sifre C, Moliner S, López-Alarcón D, Valía JC, Gil F, Peiró CM (2004) Ketamine for subarachnoid anesthesia during hypovolemia: preliminary study in pigs. *Rev Esp Anestesiología Reanimación* 51, 3-11.
- Estes KS, Brewster ME, Webb AI, Bodor N (1990) A non-surfactant formulation for alfaxalone based on an amorphous cyclodextrin: Activity studies in rats and dogs. *Int J Pharm* 65, 101-107.
- Evans JM y Keogh J (1977) Adverse reactions to intravenous anaesthetic induction agents. *Br Med J* 2, 735-736.
- Evans JM, Aspinall KW, Hendy PG (1972) Clinical evaluation in cats of a new anaesthetic CT-1341. *J Small Anim Pract* 13, 479-486.
- Fain JN y García-Sainz JA (1980) Role of phosphatidylinositol turnover in alpha-1 and adenylate cyclase inhibition in alpha-2 effects of catecholamines. *Life Sci* 26, 1183-1194.
- Fairbanks CA, Stone LS, Kitto KF, Nguyen HO, Posthumus IJ, Wilcox GL (2002) Alpha(2C)-Adrenergic receptors mediate spinal analgesia and adrenergic-opioid synergy. *J Pharmacol Exp Ther* 300, 282-290.
- Ferré PJ, Pasloske K, Whittem T, Ranasinghe MG, Li Q, Lefebvre HP (2006) Plasma pharmacokinetics of alfaxalone in dogs after an intravenous bolus of Alfaxan-CD RTU. *Vet Anaesth Analg* 33, 229-236.
- Feuerstein TJ, Huber B, Vetter J, Aranda H, Van Velthoven V, Limberger NJ (2000) Characterization of the alpha(2)-adrenoceptor subtype, which functions as alpha(2)-autoreceptor in human neocortex. *Pharmacol Exp Ther* 294, 356-362.
- Flecknell P (2009) *Laboratory Animal Anaesthesia* (3rd edn), Academic Press, London, UK (Elsevier).
- Fürst S (1999) Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. *Brain Research Bulletin* 48, 129-141.
- Furuyama T, Kiyama H, Sato K, Park HT, Maeno H, Takagi H, Tohyama M (1993) Region-specific expression of subunits of ionotropic glutamate receptors (AMPA-type, KA-type and NMDA receptors) in the rat spinal cord with special reference to nociception. *Brain Res Mol Brain Res* 18, 141-151.
- Gaertner DJ, Hallman TM, Hankenson FC, Batchelder MA (2008) Anesthesia and Analgesia for Laboratory Rodents. En: *Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals* (2nd edn). Fish RE, Brown MJ, Danneman PJ, Karas AZ (eds). Academic Press, London, UK (Elsevier), pp 239-297.
- Gibbs ME, Summers RJ (2005) Contrasting roles for beta1, beta2 and beta3-adrenoceptors in memory formation in the chick. *Neuroscience* 131, 31-42.
- Gieseg M, Hon H, Bridges J, Walsh V (2014) A comparison of anaesthetic recoveries in cats following induction with either alfaxalone or ketamine and diazepam. *N Z Vet J* 62, 103-109.

- Gill SS, Pulido OM (2001) Glutamate receptors in peripheral tissues: Current knowledge, future research and implications for toxicology. *Toxicological Pathology* 29, 208-223.
- Gill SS, Pulido OM, Mueller RW y McGuire PF (1998) Molecular and immunological characterization of the ionotropic glutamate receptors in the rat heart. *Brain Res Bull* 46, 429-435.
- Gilman AG (1987) G proteins: transducers of receptor-generated signals. *Annu Rev Biochem* 56, 615-649.
- Giral M, García-Olmo DC, Gómez-Juárez M, Gómez de Segura IA (2014) Anaesthetic effects in the ferret of alfaxalone alone and in combination with medetomidine or tramadol: a pilot study. *Lab Anim* 48, 313-20.
- Gnegy ME (2012) Catecholamines. En: *Basic Neurochemistry* (8th edn). Brady ST, Siegel GJ, Albers RW, Price DL (eds). Academic Press, Oxford, UK, (Elsevier), pp 283-299.
- Gomez de Segura IA, Tendillo FJ, Mascías A, Santos M, Castillo-Olivares JL, Steffey EP (1997) Actions of xylazine in young swine. *Am J Vet Res* 58, 99-102.
- González SF (2004) Ketamina epidural: realidad y controversia. *Rev cuba anestesiología reanim* 3, 36-42.
- Goodchild CS, Guo Z, Nadeson R (2000) Antinociceptive properties of neurosteroids I. Spinally-mediated antinociceptive effects of water soluble aminosteroids. *Pain* 88, 23-29.
- Goodrich JA, Lackland DT, Del Signore MJ, Swindle MM (2001) Noninvasive measurement of blood pressures in the Yucatan micropig (*Sus scrofa domestica*) with and without midazolam-induced sedation. *Comp Med* 51, 13-15.
- Granhölm M, McKusick BC, Westerholm FC, Aspegren JC (2007) Evaluation of the clinical efficacy and safety of intramuscular and intravenous doses of dexmedetomidine and medetomidine in dogs and their reversal with atipamezole. *Vet Rec* 160, 891-897.
- Granry JC, Dube L, Turroques H, Conreux F (2000) Ketamine: new uses for an old drug. *Curr Opin Anaesth* 3, 299-302.
- Green CJ, Halsey MJ, Precious S, Wardley-Smith B (1978) Alphaxalone-alphadolone anaesthesia in laboratory animals. *Lab Anim* 12, 85-89.
- Green CJ, Knight J, Precious S, Simpkin S (1981) Ketamine alone and combined with diazepam or xylazine in laboratory animals: A 10 year experience. *Lab anim* 15, 163-170.
- Greenblatt DJ, Abernethy DR, Locniskar A, Harmatz JS, Limjuco RA, Shader RI (1984). Effect of age, gender, and obesity on midazolam kinetics. *Anesthesiology* 61, 27-35.
- Greenblatt DJ, Shader RI (1974a) Drug therapy. Benzodiazepines (second of two parts). *N Engl J Med* 291, 1239-1243.
- Greenblatt DJ, Shader RI (1974b) Drug therapy. Benzodiazepines (first of two parts). *N Engl J Med* 291, 1011-1015.
- Grint NJ, Smith HE, Senior JM (2008) Clinical evaluation of alfaxalone in cyclodextrin for the induction of anaesthesia in rabbits. *Vet Rec* 163, 395-396.
- Gross ME (2001) Tranquilizantes, agonistas α_2 adrenérgicos y compuestos relacionados. En: *Farmacología y terapéutica veterinaria* (2nd edn). Adams HR (eds). Acribia S.A, Zaragoza, España, pp 315-359.

- Grubb TL, Greene SA, Perez TE (2013) Cardiovascular and respiratory effects, and quality of anesthesia produced by alfaxalona administered intramuscularly to cats sedated with dexmedetomidine and hydromorphone. *J Feline Med Surg* 15, 858-865.
- Guo TZ, Jiang JY, Buttermann AE, Maze M (1996) Dexmedetomidine injection into the locus ceruleus produces antinociception. *Anesthesiology* 84, 873-881.
- Haefely WE (1989) Pharmacology of the benzodiazepine receptor. *Eur Arch Psychiatry Neurol Sci* 238, 294-330.
- Hall JE, Uhrich TD, Barney JA, Arain SR, Ebert TJ (2000) Sedative, amnestic, and analgesic properties of small-dose dexmedetomidine infusions. *Anesth Analg* 90, 699-705.
- Hall LW, Clarke KW, Trim CM (2001) *Veterinary Anaesthesia* (10th edn), W.B Saunders, London, UK.
- Hansen LL y Bertelsen MF (2013) Assessment of the effects of intramuscular administration of alfaxalone with and without medetomidina in Horsfield's tortoises (*Agrionemys horsfieldii*). *Vet Anaesth Analg* 40, e68-75.
- Haskins SC, Farver TB, Patz JD (1986) Cardiovascular changes in dogs given diazepam and diazepam-ketamine. *Am J Vet Res* 47, 795-798.
- Hassel B, Dingledine R (2012) Glutamate and glutamate receptors. En: *Basic neurochemistry: principles of molecular, cellular, and medical neurobiology* (8th edn), Brady ST, Siegel GJ, Albers RW, Price DL (eds). Academic Press, Waltham, MA, USA (Elsevier), pp 342-366.
- Hatch RC (1973) Effects of ketamine when used in conjunction with meperidine or morphine in cats. *J Am Vet Med Assoc* 162, 964-966.
- Hatch RC, Ruch T (1974) Experiments on antagonism of ketamine anesthesia in cats given adrenergic, serotonergic, and cholinergic stimulants alone and in combination. *Am J Vet Res* 35, 35-39.
- Hayashi Y, Guo TZ, Maze M (1996) Hypnotic and analgesic effects of the alpha 2-adrenergic agonist dexmedetomidine in morphine-tolerant rats. *Anesth Analg* 83, 606-610.
- Hayashi Y, Maze M (1993) Alpha-2 adrenoceptor agonists and anaesthesia. *Br J Anaesth* 71, 108-118.
- Hayashi Y, Sumikawa K, Maze M, Yamatodani A, Kamibayashi T, Kuro M, Yoshiya I (1991) Dexmedetomidine prevents epinephrine-induced arrhythmias through stimulation of central alpha 2 adrenoceptors in halothane-anesthetized dogs. *Anesthesiology* 75, 113-117.
- He L, Xu JM, He T, Liu L, Zhu R (2014) Dexmedetomidine pretreatment alleviates propofol injection pain. *Ups J Med Sci* 119, 338-342.
- Heidemann SR (2003) Bases moleculares y celulares de la regulación fisiológica. En: *Fisiología veterinaria* (3rd edn). Cunningham JG (eds). Elsevier, Madrid, España, pp 2-29.
- Hellyer PW, Freeman LC, Hubbell JA (1991) Induction of anesthesia with diazepam-ketamine and midazolam-ketamine in greyhounds. *Vet Surg* 20, 143-147.
- Herbert GL, Bowlk KL, Ford-Fennah V, Covey-Crump GL, Murrel JXC (2013) Alfaxalone for total intravenous anaesthesia in dogs undergoing ovariohysterectomy: a comparison of premedication with acepromazine or dexmedetomidina. *Vet Anaesth Analg* 40, 124-133.

- Hevers W, Lüddens H (1998) The diversity of GABAA receptors. Pharmacological and electrophysiological properties of GABAA channel subtypes. *Mol Neurobiol* 18, 35-86.
- Hewitt DJ (2000) The use of NMDA receptor antagonists in the treatment of chronic pain. *Clin J Pain* 16, 573-579.
- Himmelseher S, Durieux ME (2005) Ketamine for perioperative pain management. *Anesthesiology* 102, 211-220.
- Hirota K, Lambert DG (1996) Ketamine: its mechanism of action and unusual clinical uses. *Brit J Anaesth* 77, 441-444.
- Hocking G, Cousins MJ (2003) Ketamine in chronic pain management: an evidence-based review. *Anesth Analg* 97, 1730-1739.
- Hogskilde S, Wagner J, Carl P, Sorensen MB (1987) Anaesthetic properties of pregnanolone emulsion: A comparison with alphaxolone/alphadolone, propofol, thiopentone and midazolam in a rat model. *Anaesthesia* 42, 1045-1050.
- Hohlrieder M, Brimacombe J, Eschertzhuber S, Ulmer H, Keller C (2007) A study of airway management using the ProSeal LMA laryngeal mask airway compared with the tracheal tube on postoperative analgesia requirements following gynaecological laparoscopic surgery. *Anaesthesia* 62, 913-918.
- Honda Y, Higuchi H, Matsuoka Y, Yabuki-Kawase A, Ishii-Maruhama M, Tomoyasu Y, Maeda S, Morimatsu H, Miyawaki T (2015) The inhibitory effect of locally injected dexmedetomidine on carrageenan-induced nociception in rats. *J Pharmacol* 764, 215-219.
- Hrdalo JC, Fiorentini JO, Belá MG, Schiaffi AL, Santos C, Serrano M, Magniesi S, Baraco P, Lardino G (2014) Combinación de dexmedetomidina, zolazepam y tiletamina en la anestesia para cerdos. En: XV Jornadas de Divulgación Técnico-Científicas en ciencias veterinarias II Jornada Latinoamericana. UNR, pp 193-194.
- Hudetz JA, Pagel PS (2010) Neuroprotection by ketamine: a review of the experimental and clinical evidence. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 24, 131-142.
- Huettner JE (1990) Glutamate receptor channels in rat DRG neurons: activation by kainate and quisqualate and blockade of desensitization by Con A. *Neuron* 5, 255-266.
- Hung OR, Dyck JB, Varvel J, Shafer SL, Stanski DR (1996) Comparative absorption kinetics of intramuscular midazolam and diazepam. *Can J Anaesth* 43, 450-455.
- Huynh M, Poumeyrol S, Pignon C, Le Teuff G, Zilberstein L (2015) Intramuscular administration of alfaxalone for sedation in rabbits. *Vet Rec* 176, 255.
- Ickeringill M, Shehabi Y, Adamson H, Ruettimann U (2004) Dexmedetomidine infusion without loading dose in surgical patients requiring mechanical ventilation: haemodynamic effects and efficacy. *Anaesth Intensive Care* 32, 741-745.
- Jaakola ML, Ali-Melkkila T, Kanto J, Kallio A, Scheinin H, Scheinin M (1992) Dexmedetomidine reduces intraocular pressure, intubation responses and anaesthetic requirements in patients undergoing ophthalmic surgery. *Br J Anaesth* 68, 570-575.
- Jaakola ML, Salonen M, Lehtinen R, Scheinin H (1991) The analgesic action of dexmedetomidine--a novel alpha 2-adrenoceptor agonist--in healthy volunteers. *Pain* 46, 281-285.
- Jahangir SM, Islam F, Aziz L (1993) Ketamine infusion for postoperative analgesia in asthmatics: a comparison with intermittent meperidine. *Anesth Analg* 76, 45-49.

- Jalanka HH, Roeken BO (1990) The use of medetomidine and medetomidine-ketamine combinations, and atipamezole in nondomestic mammals: A review. *J Zoo Wildl Med* 21, 259-282.
- Jalonen J, Halkola L, Kuttilla K, Perttilä J, Rajalin A, Savunen T, Scheinin M, Valtonen M (1995) Effects of dexmedetomidine on coronary hemodynamics and myocardial oxygen balance. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 9, 519-524.
- Janumpalli S, Butler LS, MacMillan LB, Limbird LE, McNamara JG (1998) A point mutation (D79N) of the alpha-2 adrenergic receptor abolishes the antiepileptogenic action of endogenous norepinephrine. *J Neurosci* 18, 2004-2008.
- Jokinen MP, Clarkson TB, Prichard RW (1985) Animal models in atherosclerosis research. *Exp Mol Pathol* 42, 1-28.
- Jones RS (1985) Steroids anaesthetics. *Proc 2nd Intl Cong Vet Anes*, 15-17.
- Joo G, Horvath G, Klimscha W, Kekesi G, Dobos I, Szikszay M, Benedek G (2000) The effects of ketamine and its enantiomers on the morphine- or dexmedetomidine-induced antinociception after intrathecal administration in rats. *Anesthesiology* 93, 231-241.
- Jorgensen EM (2005) GABA *WormBook* 31, 1-13.
- Kaiser GM, Breuckmann F, Aker S, Eggebrecht H, Kuehl H, Erbel R, Fruhauf NR, Broelsch CE, Quick HH (2007) Anesthesia for cardiovascular interventions and magnetic resonance imaging in pigs. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 46, 30-33.
- Kallio A, Scheinin M, Koulu M, Ponkilainen R, Ruskoaho H, Viinamaki O, Scheinin H (1989) Effects of dexmedetomidine, a selective alpha 2-adrenoceptor agonist, on hemodynamic control mechanisms. *Clin Pharmacol Ther* 46, 33-42.
- Kamibayashi T, Hayashi Y, Mammoto T, Yamatodani A, Sumikawa K, Yoshiya I (1995) Role of the vagus nerve in the antidysrhythmic effect of dexmedetomidine on halothane/epinephrine dysrhythmias in dogs. *Anesthesiology* 83, 992-999.
- Karas AZ (1999) Sedation and chemical restraint in the dog and cat. *Tech Small Anim Pract* 14, 15-26.
- Karlsson BR, Forsman M, Roald OK, Heier MS, Steen PA (1990) Effect of dexmedetomidine, a selective and potent alpha 2-agonist, on cerebral blood flow and oxygen consumption during halothane anesthesia in dogs. *Anesth Analg* 71, 125-129.
- Kawamata T, Omote K, Sonoda H, Kawamata M, Nomiki A (2000) Analgesic mechanisms of ketamine in the presence and absence of peripheral inflammation. *Anesthesiology* 93, 520-528.
- Kayama Y, Iwama K (1972) The EEG, evoked potentials and single-Unit activity during ketamine anesthesia in cats. *Anesthesiology* 36, 316-328.
- Keates H (2003) Induction of anaesthesia in pigs using a new alphaxalone formulation. *Vet Rec* 153, 627-628.
- Kerr CL, McDonnell WN, Young SS (1996) A comparison of romifidine and xylazine when used with diazepam/ketamine for short duration anesthesia in the horse. *Can Vet J* 37, 601-609.
- Khasar SG, Green PG, Chou B, Levine JD (1995) Peripheral nociceptive effects of alpha 2-adrenergic receptor agonists in the rat. *Neuroscience* 66, 427-432.
- Kishi R, Bongiovanni R, de Nadai TR, Freitas RL, de Oliveira R, Ferreira CM, Coimbra NC (2006) Dorsal raphe nucleus and locus coeruleus neural networks and the elaboration of the sweet-substance-induced antinociception. *Neurosci Lett* 396, 12-17.
- Klöppel H y Leece E (2011) Comparison of ketamine and alfaxalone for induction and maintenance of anaesthesia in ponies undergoing castration. *Vet Anaesth Analg* 38, 37-43.

- Ko JC, Austin BR, Barletta M, Weil AB, Krimins RA, Payton ME (2011) Evaluation of dexmedetomidine and ketamine in combination with various opioids as injectable anesthetic combinations for castration in cats. *J Am Vet Med Assoc* 239, 1453-1462.
- Ko JC, Williams BL, Smith VL, McGrath CJ, Jacobson JD (1993) Comparison of Telazol, Telazol-Ketamine, Telazol-Xylazine and Telazol-Ketamine-Xylazine as chemical restraint and anesthetic induction combination in swine. *Lab Anim Sci* 43, 476-480.
- Kyle OC, Novak S, Bolooki H (1979) General anaesthesia in pigs. *Lab Anim Sci* 29, 123-124.
- Lakhlani PP, MacMillan LB, Guo TZ, McCool BA, Lovinger DM, Maze M, Limbird LE (1997) Substitution of a mutant alpha-2a-adrenergic receptor via "hit and run" gene targeting reveals the role of this subtype in sedative, analgesic, and anesthetic-sparing responses in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94, 9950-9955.
- Lambert JJ, Belelli D, Hill-Venning C, Peters JA (1995) Neurosteroids and GABAA receptor function. *Trends Pharmacol Sci* 16, 295-303.
- Lambert JJ, Belelli D, Peden DR, Vardy A, Peters JA (2003) Neurosteroid modulation of GABAA receptors. *Prog Neurobiol* 71, 67-80.
- Lan NC, Gee KW (1994) Neuroactive steroid actions at the GABA_A receptor. *Horm Behav* 28, 537-544.
- Lands AM, Arnold A, McAuliff JP, Ludvena FP, Brown TG (1967) Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. *Nature* 214, 597-598.
- Langer GA (1974) Calcium in mammalian myocardium: localization, control, and the effects of digitalis. *Circ Res* 35, 91-98.
- Lannig CF, Harmel MH (1975) Ketamine anesthesia. *Annu Rev Med* 6, 137-141.
- Laskowski K, Stirling A, McKay WP, Lim HJ (2011) A systematic review of intravenous ketamine for postoperative analgesia. *Can J Anesth* 58, 911-923.
- Lechin F, Van der Dijs B, Hernández-Adrian G (2005) Dorsal raphe vs. Median raphe serotonergic antagonism. Anatomical, physiological, behavioral, neuroendocrinological, neuropharmacological and clinical evidences: relevance for neuropharmacological therapy. *Progress Neuro-Psychophar and Biolog Psychiatry* 30, 564-585.
- Lee J, Suh S, Choi R, Hyun C (2015) Cardiorespiratory and anesthetic effects produced by the combination of butorphanol, medetomidine, and alfaxalone administered intramuscularly in Beagle dogs. *J Vet Med Sci*, doi: 10.1292/jvms.15-0065.
- Lee JH, Cho SH, Kim SH, Chae WS, Jin HC, Lee JS, Kim YI (2011) The effect of target-controlled infusion of low-dose ketamine on heat pain and temporal summation threshold. *J Anesth* 25, 516-522.
- Lemere F (1960) Toxic reactions to chlordiazepoxide. *JAMA* 174, 893.
- Lemke KA (2007) Anticholinergics and Sedatives. En: Lumb & Jones' *Veterinary Anesthesia and Analgesia* (4th edn). Tranquilli WJ, Thurmon JC, Grimm KA (eds). Blackwell Publishing, Iowa, USA, pp 203-240.
- Lin GY, Robben JH, Murrell JC, Aspegrén J, McKusick BC, Hellebrekers LJ (2007) Dexmedetomidine constant rate infusion for 24 hours during and after propofol or isoflurane anaesthesia in dogs. *Vet Anaesth Analg* 35, 141-153.
- Lin HC (2007) Dissociative Anesthetics. En: Lumb & Jones' *Veterinary Anesthesia and Analgesia* (4th edn). Tranquilli WJ, Thurmon JC, Grimm KA (eds). Blackwell Publishing, Iowa, USA, pp 301-354.
- Linden DR, Seybold VS (1999) Spinal neurokinin3 receptors mediate thermal but not mechanical hyperalgesia via nitric oxide. *Pain* 80, 309-317.

- Link RE, Desai K, Hein L, Stevens ME, Chruscinski A, Bernstein B, Barsh GS, Kobilka BK (1996) Cardiovascular regulation in mice lacking alpha-2 adrenergic receptor subtypes b and c. *Science* 273, 803-805.
- Linkenhoker JR, Burkholder TH, Linton CG, Walden A, Abusakran-Monday KA, Rosero AP, Foltz CJ (2010) Effective and safe anesthesia for Yorkshire and Yucatan swine with and without cardiovascular injury and intervention. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 49, 344-351.
- Lo JN, Cumming JF (1975) Interaction between sedative premedicants and ketamine in man in isolated perfused rat livers. *Anesthesiology* 43, 307-312.
- López-Timoneda F, Gasco MC (2009) Fármacos anestésicos generales. En: Velazquez Farmacología Básica y Clínica (18th edn). Lorenzo P, Moreno A, Lizasoain I, Leza JC, Moro MA, Portolés A (eds). Médica Panamérica, Madrid, España, pp 233-248.
- Lorenzana-Jiménez M (2008) Sedantes e hipnóticos. En: Farmacología Médica (1st edn). Mendoza-Patiño N (eds). Médica Panamérica, México DF, México, pp 303-311.
- Lugo-Roman LA, Rico PJ, Sturdivant R, Burks R, Settle TL (2010) Effects of serial anesthesia using ketamine or ketamine/medetomidine on hematology and serum biochemistry values in rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *J Med Primatol* 39, 41-49.
- Mac Donald E, Scheinin H, Scheinin M (1988) Behavioural and neurochemical effects administration of detomidine on the behaviour, temperature, and turnover rates of brain biogenic amines in rodents and reversal of these effects by atipamezole. *Acta Vet Scand* 85, 77-82.
- Maccioli GA (2003) Dexmedetomidine to facilitate drug withdrawal. *Anesthesiology* 98, 575-577.
- MacDonald E y Scheinin M (1995) Distribution and pharmacology of alpha 2-adrenoceptors in the central nervous system. *J Physiol Pharmacol* 46, 241-258.
- MacDonald E, Kobilka BK, Scheinin M (1997) Gene targeting--homing in on alpha 2-adrenoceptor-subtype function. *Trends Pharmacol Sci* 18, 211-219.
- MacDonald E, Scheinin M, Scheinin H, Virtanen R (1991) Comparison of the behavioural and neurochemical effects of the two optical enantiomers of medetomidine, a selective alpha-2 adrenoceptor agonist. *J Pharm Exp Ther* 259, 848-854.
- MacLeod SM, Giles HG, Bengert B, Liu FF, Sellers EM (1979) Age- and gender-related differences in diazepam pharmacokinetics. *J Clin Pharmacol* 19, 15-19.
- MacMillan LB, Hein L, Smith MS, Piascik MT, Limbird LE (1996) Central hypotensive effects of the alpha-2a adrenergic receptor subtype. *Science* 273, 801-803.
- Maddern K, Adams VJ, Hill NA, Leece EA (2010) Alfaxalone induction dose following administration of medetomidine and butorphanol in the dog. *Vet Anaesth Analg* 37, 7-13.
- Manzoni OJ, Finiels-Marlier F, Sasseti I, Bockaert J, Le Peuch C, Sladeczek, FA (1990) The glutamate receptor of the Qp-type activates protein kinase C and is regulated by protein kinasa C. *Neurosci Lett* 109, 146-151.
- Marsh MK, McLeod SR, Hansen A, Maloney SK (2009) Induction of anaesthesia in wild rabbits using a new alfaxalone formulation. *Vet Rec* 164, 122-123.
- Martín-García E, Pallarés M (2005) Intrahippocampal nicotine and neurosteroids effects on the anxiety-like behaviour in voluntary and chronic alcohol-drinking rats. *Behav Brain Res* 164, 117-127.

- Marty J, Nitenberg A, Blanchet F, Zouieueche S, Desmots JM (1986) Effects of midazolam on the coronary circulation in patients with coronary artery disease. *Anesthesiology* 64, 206-210.
- Mason ST, Angel A (1983) Anaesthesia: The role of adrenergic mechanisms. *Eur J Pharmacol* 91, 29-39.
- Mato M, Perez A, Otero J, Torres LM (2002) Dexmedetomidina, un fármaco prometedor. *Rev Esp Anestesiología Reanimación* 49, 407-420.
- Mayo W, George O, Darbra S, Bouyer JJ, Vallée M, Darnaudéry M, Pallarès M, Lemaire-Mayo V, Le Moal M, Piazza PV, Abrous N (2003) Individual differences in cognitive aging: implication of pregnenolone sulfate. *Prog Neurobiol* 71, 43-48.
- McCormick DA (1989) GABA as an inhibitory neurotransmitter in human cerebral cortex. *J Neurophysiol* 62, 1018-1027.
- McGuinness SK, Cleland H, Hogan L, Hucker T, Mahar PD (2011) A Systematic review of ketamine as an analgesic agent in adult burn injuries. *Pain Medicine* 12, 1551-1558.
- Mehta AK, Ticku MK (1999) An update on GABA_A receptors. *Brain Res Rev* 29, 196-217.
- Meyer RE y Fish RE (2008) Pharmacology of Injectable Anesthetics, Sedatives, and Tranquilizers. En: *Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals* (2nd edn). Fish RE, Brown MJ, Danneman PJ, Karas AZ (eds). Academic Press, London, UK (Elsevier), pp 27-82.
- Michou JN, Leece EA, Brearley JC (2012) Comparison of pain on injection during induction of anaesthesia with alfaxalone and two formulations of propofol in dog. *Vet Anaesth Analg* 36, 42-54.
- Michou JN, Leece EA, Brearley JC (2012) Comparison of pain on injection during induction of anaesthesia with alfaxalone and two formulations of propofol in dogs. *Vet Anaesth Analg* 39, 275-281.
- Minneman KP, Hedberg A, Molinoff PB (1979) Comparison of beta adrenergic receptor subtypes in mammalian tissues. *J Pharmacol Exp Ther* 211, 502-508.
- Mirski MA, Rossell LA, McPherson RW, Traystman RJ (1994) Dexmedetomidine decreases seizure threshold in a rat model of experimental generalized epilepsy. *Anesthesiology* 81, 1422-1428.
- Miyazaki Y, Adachi T, Kurata J, Utsumi J, Shichino T, Segawa H (1999) Dexmedetomidine reduces seizure threshold during enflurane anaesthesia in cats. *Br J Anaesth* 82, 935-937.
- Mody I, Pearce RA (2004) Diversity of inhibitory neurotransmission through GABA(A) receptors. *Trends in Neurosciences* 27, 569-575.
- Möhler H, Benke D, Fritschy JM (2001) GABA(B)-receptor isoforms molecular architecture and distribution. *Life Sci* 68, 2297-2300.
- Möhler H, Fritschy JM, Rudolph U (2002) A new benzodiazepine pharmacology. *J Pharmacol Exp Ther* 300, 2-8.
- Mokha SS, McMillan JA, Iggo A (1986) Pathways mediating descending control of spinal nociceptive transmission from the nuclei locus coeruleus (LC) and raphe magnus (NRM) in the cat. *Exp Brain Res* 61, 597-606.
- Morrow AL, Suzdak PD, Paul SM (1988) Benzodiazepine, barbiturate, ethanol and hypnotic steroid hormone modulation of GABA-mediated chloride ion transport in rat brain synaptoneuroosomes. *Adv Biochem Psychopharmacol* 45, 247-261.

- Moyano-Mendez JR, Gines Dorado JM, Arias Blanco MJ, Rabasco Alvarez AM (1994) Utilidad de las ciclodextrinas y sus derivados en el campo farmacéutico I. Industria farmacéutica, julio-agosto, 37-41.
- Mueller RA, Smith RD, Spruitt WA, Breese GR (1975) Central monoaminergic neuronal effects of MAC of halothane and cyclopropane in rats. *Anesthesiology* 42, 143-152.
- Muir W, Lerche P, Wiese A, Nelson L, Pasloske K, Whitem T (2009) The cardiorespiratory and anesthetic effects of clinical and supraclinical doses of alfaxalone in cats. *Vet Anaesth Analg* 36, 42-54.
- Muir WW, Bednarski L, Bednarski R (1991) Thiamylal- and halothane-sparing effect of diazepam in dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 14, 46-50.
- Muir WW, Hubbell JAE, Bednarski RM, Skarda RT (2008a) Manual de anestesia veterinaria (4th edn), Elsevier, Madrid, España.
- Muir WW, Lerche P, Wiese A, Nelson L, Pasloske K, Whitem T (2008b) Cardiorespiratory and anesthetic effects of clinical and supraclinical doses of alfaxalone in dogs. *Vet Anaesth Analg* 35, 451-462.
- Nadeson R, Goodchild CS (2000) Antinociceptive properties of neurosteroids II. Experiments with Saffan and its components alphaxalone and alphadalone to reveal separation of anesthetic and antinociceptive effects and the involvement of spinal cord GABAA receptors. *Pain* 88, 31-39.
- Nadler JV (1981) Minireview: Kainic acid as a tool for the study of temporal lobe epilepsy. *Life Sci* 29, 2031-2042.
- Navarrete-Zuazo VM (2014) La alternativa de la ketamina. *Revista Mexicana de Anestesiología* 37, 243-250.
- Nelson LE, Lu J, Guo T, Saper CB, Franks NP, Maze M (2003) The alpha2-adrenoceptor agonist dexmedetomidine converges on an endogenous sleep-promoting pathway to exert its sedative effects. *Anesthesiology* 98, 428-436.
- Němeček L, Hron P, Roth S (1982) [Anesthesia in dogs and cats with althesin] *Vet Med (Praha)* 27, 31-36.
- Neugebauer V, Lucke T, Schaible HG (1994) Requirement of metabotropic glutamate receptors for the generation of inflammation-evoked hyperexcitability in rat spinal cord neurons. *Eur J Neurosci* 6, 1179-86.
- Ngai SH, Bolme P (1966) Effects of anesthetics on circulatory regulatory mechanisms in the dog. *J Pharmacol Exp Ther* 153, 495-504.
- Nishimura R, Kim HY, Matsunaga S, Hayashi K, Tamura H, Sasaki N, Takeuchi A (1994) Cardiopulmonary effects of medetomidine-midazolam and medetomidine-midazolam-atipamezole in laboratory pigs. *J Vet Med Sci* 56, 359-363.
- Nunes S, Berg L, Raittinen LP, Ahonen H, Laranne J, Lindgren L, Parviainen I, Ruokonen E, Tenhunen J (2007) Deep sedation with dexmedetomidine in a porcine model does not compromise the viability of free microvascular flap as depicted by microdialysis and tissue oxygen tension. *Anesth Analg* 105, 666-72.
- Nussbaumer I, Zimmermann W, Peterbauer C (2008) Anaesthesia of pigs with a combination of romifidine, butorphanol and ketamine. *Vet Rec* 163, 720-721.
- Olivar T, Laird JMA (2000) Efectos diferenciales del bloqueo de los receptores de N. Metil. D. Aspartato en los reflejos nociceptivos somáticos y viscerales. *Rev Soc Esp Dolor* 7, 291-300.

- Olsen RW, Li GD (2012) GABA. En: Basic Neurochemistry Principles of Molecular, Cellular, and Medical Neurobiology (8st edn). Brady ST, Siegel GJ, Albers RW, Price DL (eds). Academic Press, Oxford, UK, (Elsevier), pp 367-376.
- Olsen RW, Tobin AJ (1990) Molecular biology of GABA_A receptors. *FASEB J* 4, 1469-1480.
- Orrego F, Villanueva S (1993) The chemical nature of the main central excitatory transmitter: a critical appraisal based upon releas estudios and synaptic vesicle localization. *Neuroscience* 56, 539-555.
- Owens DF, Kriegstein AR (2002) Is there more to GABA than synaptic inhibition?. *Nat Rev Neurosci* 3, 715-27.
- Panzer O, Moitra V, Sladen RN (2009) Pharmacology of sedative-analgesic agents: dexmedetomidine, remifentanyl, ketamine, volatile anesthetics, and the role of peripheral mu antagonists. *Crit Care Clin* 25, 451-469.
- Park-Chung M, Wu FS, Farb DH (1994) 3 alpha-hydroxy-5 beta-pregnan-20-one sulfate: a negative modulator of the NMDA-induced current in cultured neurons. *Mol Pharmacol* 46, 146-50.
- Paul SM, Purdy RH (1992) Neuroactive steroids. *FASEB J* 6, 2311-2322.
- Peden CJ, Cloote AH, Stratford N, Prys-Roberts C (2001) The effect of intravenous dexmedetomidine premedication on the dose requirement of propofol to induce loss of consciousness in patients receiving alfentanil. *Anaesthesia* 56, 408-413.
- Penttilä J, Helminen A, Anttila M, Hinkka S, Scheinin H (2004) Cardiovascular and parasympathetic effects of dexmedetomidine in healthy subjects. *Can J Physiol Pharmacol* 82, 359-62.
- Peuler M, Glass DD, Arens JF (1975) Ketamine and intraocular pressure. *Anesthesiology* 43, 575-578.
- Pigino G, Morfini GA, Brady ST (2012) Intracellular trafficking. En Basic neurochemistry: principles of molecular, cellular, and medical neurobiology (8th edn), Brady ST, Siegel GJ, Albers RW, Price DL (eds). Academic Press, Waltham, MA, USA (Elsevier), pp 119-145.
- Pinelas R, Alibhai HI, Mathis A, Jimenez Lozano A, Brodbelt DC (2014) Effects of different doses of dexmedetomidine on anaesthetic induction with alfaxalone--a clinical trial. *Vet Anaesth Analg* 41, 78-85.
- Pinos H, Collado P, Salas M, Pérez-Torrero E (2004) Undernutrition and food rehabilitation effects on the locus coeruleus in the rat. *Neuroreport* 15, 1417-1420.
- Pirker S, Schwarzer C, Wieselthaler A, Sieghart W, Sperk G (2000) GABA(A) receptors: immunocytochemical distribution of 13 subunits in the adult rat brain. *Neuroscience* 101, 815-850.
- Price HL (1975) Intravenous anesthetics. En: The Pharmacological Basis of Therapeutics (5th edn). Goodman LS y Gilman A (eds). Macmillan, NY, NY, USA, pp 97-101.
- Pritchett DB, Sontheimer H, Shivers BD, Ymer S, Kettenmann H, Schofield PR, Seeburg PH (1989) Importance of a novel GABA_A receptor subunit for benzodiazepine pharmacology. *Nature* 338, 582-585.
- Psatha E, Alibhai HI, Jimenez-Lozano A, Armitage-Chan E, Brodbelt DC (2011) Clinical efficacy and cardiorespiratory effects of alfaxalone, or diazepam/fentanyl for induction of anaesthesia in dogs that are a poor anaesthetic risk. *Vet Anaesth Analg* 38, 24-36.
- Puia G, Ducic I, Vicini S, Costa E (1993) Does neurosteroid modulatory efficacy depend on GABA_A receptor subunit composition?. *Receptors Channels* 1, 135-142.

- Pypendop BH, Barter LS, Stanley SD, Ilkiw JE (2011) Hemodynamic effects of dexmedetomidine in isoflurane-anesthetized cats. *Vet Anaesth Analg* 38, 555-567.
- Rabin BC, Guo TZ, Gregg K, Maze M (1996) Role of serotonergic neurotransmission in the hypnotic response to dexmedetomidine, an alpha 2-adrenoceptor agonist. *Eur J Pharmacol* 306, 51-59.
- Raeder JC, Stenseth LB (2000) Ketamine: a new look at an old drug. *Curr Opin Anaesth* 13, 463-468.
- Ragan HA, Gillis MF (1975) Restraint, venipuncture, endotracheal intubation, and anesthesia of miniature swine. *Lab Anim Sci* 25, 409-419.
- Randall LO, Schallek W, Heise GA, Keith EF, Bagdon RE (1960) The psychosedative properties of methaminodiazepoxide. *J Pharmacol Exp Ther* 129, 163-171.
- Ratcliffe H, Uginbuhl H (1971). The domestic pig: a model for experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis* 13, 133-136.
- RD 53/2013 de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados para la experimentación y otros fines científicos. BOE nº 34, viernes 8/02/2013.
- Redig PT, Duke GE (1976) Intravenously administered ketamine HCl and diazepam for anesthesia of raptors. *J Am Vet Med Assoc* 169, 886-888.
- Reich DL, Silvay G (1989) Ketamine: and update on the first twenty-five years of clinical experience. *Can J Anaesth* 36, 186-197.
- Reid J, Nolan AM (2001) Anestésicos intravenosos. En: *Manual de Anestesia y Analgesia en pequeños animales* (1st edn). Seymour C y Gleed R (eds). Ediciones S, Barcelona, España, pp 119-134.
- Reid JS, Frank RJ (1972) Prevention of undesirable side reactions of ketamina anesthesia in cats. *J Am Anim Hosp Assoc* 8, 115-119.
- Reitman JS, Mahley RW, Fry DL (1982) Yucatan miniature swine as a model for diet-induced atherosclerosis. *Atherosclerosis* 43, 119-32.
- Reves JG, Corssen G, Holcomb C (1978) Comparison of two benzodiazepines for anaesthesia induction: midazolam and diazepam. *Can Anaesth Soc J* 25, 211-214.
- Reves JG, Glass PS, Lubarsky DA, McEvoy MD (2005) Anestésicos intravenosos no opiodes. En: *Miller Anestesia* (6th edn). Miller RD (eds). Elsevier, Madrid, España, pp 317-278.
- Reyes BA, Valentino RJ, Xu G, Van Bockstaele EJ (2005) Hypothalamic projections to locus coeruleus neurons in rat brain. *Eur J Neurosci* 22, 93-106.
- Ribas T, Bublot I, Junot S, Beaufrère H, Rannou B, Gagnière P, Cadoré JL, Pariaut R (2015) Effects of intramuscular sedation with alfaxalone and butorphanol on echocardiographic measurements in healthy cats. *J Feline Med Surg* 17, 530-536.
- Roback MG, Wathen JE, Mackenzie T, Bajaj L (2006) A Randomized, Controlled trial of IV versus IM Ketamine for Sedation of pediatric receiving emergency department Orthopedic procedures. *Ann Emerg Med* 48, 605-612.
- Robin C, Trieger N (2002) Paradoxical reactions to benzodiazepines in intravenous sedation: a report of 2 cases and review of the literature. *Anesth Prog* 49, 128-132.
- Rodrigo-Mocholí D, Belda E, Bosmans T, Laredo FG (2015) Clinical efficacy and cardiorespiratory effects of intramuscular administration of alfaxalone alone or in combination with dexmedetomidine in cats. *Vet Anaesth Analg*, doi: 10.1111/vaa.12304.

- Rosenbaum DM, Cherezov V, Hanson MA, Rasmussen SG, Thian FS, Kobilka TS, Choi HJ, Yao XJ, Weis WI, Stevens RC, Kobilka BK (2007) GPCR engineering yields high-resolution structural insights into α_2 -adrenergic receptor function. *Science* 318, 1266–1273.
- Ruskoaho H y Leppaluoto J (1989) The effect of medetomidine, an alpha 2-adrenoceptor agonist, on plasma atrial natriuretic peptide levels, haemodynamics and renal excretory function in spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. *Br J Pharmacol* 97, 125-132.
- Sakaguchi M, Nishimura R, Sasaki N, Ishiguro T, Tamura H, Takeuchi A (1995) Chemical restraint by medetomidine-ketamine and its cardiopulmonary effects in pigs. *J Vet Med Assoc* 42, 293-299.
- Sakaguchi M, Nishimura R, Sasaki N, Ishiguro T, Tamura H, Takeuchi A (1996) Anesthesia induced in pigs by use of a combination of medetomidine, butorphanol, and ketamine and its reversal by administration of atipamezole. *Am J Vet Res* 57, 529-534.
- Sallinen J, Link RE, Haapalinna A, Viitamaa T, Kulatunga M, Sjöholm B, Macdonald E, Peltö-Huikko M, Leino T, Barsh GS, Kobilka BK, Scheinin M (1997) Genetic alteration of alpha-2C adrenoceptor expression in mice: influence on locomotor, hypothermic, and neurochemical effects of dexmedetomidine, a subtype-nonselective alpha 2-adrenoceptor agonist. *Mol Pharmacol* 51, 36-46.
- Salonen M, Reid K, Maze M (1992) Synergistic interaction between alpha-2 adrenergic agonists and benzodiazepines in rats. *Anesthesiology* 76, 1004-1011.
- Sano H, Doi M, Mimuro S, Yu S, Kurita T, Sato S (2010) Evaluation of the hypnotic and hemodynamic effects of dexmedetomidine on propofol-sedated swine. *Exp Anim* 59, 199-205.
- Sato K, Kiyama H, Park HT, Tohyama M (1993) AMPA, KA and NMDA receptors are expressed in the rat DRG neurones. *Neuroreport* 4, 1263-1265.
- Savola MK, MacIver MB, Doze VA, Kendig JJ, Maze M (1991) The alpha 2-adrenoceptor agonist dexmedetomidine increases the apparent potency of the volatile anesthetic isoflurane in rats in vivo and in hippocampal slice in vitro. *Brain Res* 548, 23-28.
- Scheinin B, Lindgren L, Randell T, Scheinin H, Scheinin M (1992) Dexmedetomidine attenuates sympathoadrenal responses to tracheal intubation and reduces the need for thiopentone and preoperative fentanyl. *Br J Anaesth* 68, 126-131.
- Scheinin M, Kallio A, Koulu M, Viikari J, Scheinin H (1978) Sedative and cardiovascular effects of medetomidine, a novel selective alpha 2-adrenoceptor agonist, in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 24, 443-451.
- Scheinin M, Sallinen J, Haapalinna A (2001) Evaluation of the alpha2C-adrenoceptor as a neuropsychiatric drug target studies in transgenic mouse models. *Life Sci* 68, 2277-2285.
- Schmeling WT, Bloor BC (1993) Cardiovascular effects of alpha-2 adrenoreceptors. *Anaesth Pharmacol Rev* 1, 246-262.
- Schmid RL, Sandler AN, Katz J (1999) Use and efficacy of low-dose ketamine in the management of acute postoperative pain: a review of current techniques and outcomes. *Pain* 82, 111-125.
- Schoepp D, Bockaert J, Sladeczek F (1990) Pharmacological and functional characteristics of metabotropic excitatory amino acid receptors. *Trends Pharmacol Sci* 11, 508-515.
- Schofield PR, Darlison MG, Fujita N, Burt DR, Stephenson FA, Rodriguez H, Rhee LM, Ramachandran J, Reale V, Glencorse TA, Seeburg PH, Barnard EA (1987) Sequence

- and functional expression of the GABA A receptor shows a ligand-gated receptor super-family. *Nature* 328, 221-227.
- Schüler T, Mesic I, Madry C, Bartholomäus I, Laube B (2008) Formation of NR1/NR2 and NR1/NR3 heterodimers constitutes the initial step in N-methyl-D-aspartate receptor assembly. *J Biol Chem* 283, 37-46.
- Schwartz DD, Jones WG, Hedden KP, Clark TP (1992) Molecular and pharmacological characterization of the canine brainstem alpha-2A adrenergic receptor. *J Vet Pharmacol Ther* 22, 380-386.
- Sear JW (1996) Steroid anesthetics: old compounds, new drugs. *J Clin Anesth* 8, 91-98.
- Segal IS, Vickery RG, Maze M (1989) Dexmedetomidine decreases halothane anesthetic requirements in rats. *Acta Vet Scand Suppl* 85, 55-59.
- Seo JI, Han SH, Choi R, Han J, Lee L, Hyun C (2015) Cardiopulmonary and anesthetic effects of the combination of butorphanol, midazolam and alfaxalone in Beagle dogs. *Vet Anaesth Analg* 42, 304-308.
- Shafer SL y Schwinn DA (2005) Principios básicos de farmacología relacionada con la anestesia. En: *Miller Anestesia* (6th edn). Miller RD (eds). Elsevier, Madrid, España, pp 67-104.
- Short TG, Chui PT (1991) Propofol and midazolam act synergistically in combination. *Br J Anaesth* 67, 539-545.
- Sieghart W (1994) Pharmacology of benzodiazepine receptors: an update. *J Psychiatr Neurosci* 19, 24-29.
- Smith AC y Swindle MM (2008) Anesthesia and Analgesia in Swine. En: *Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals* (2nd edn). Fish RE, Brown MJ, Danneman PJ, Karas AZ (eds). Academic Press, London, UK (Elsevier), pp 413-440.
- Softeland E, Framstad T, Thorsen T, Holmsen H (1995) Evaluation of thiopentone-midazolam-fentanyl anesthesia in pigs. *Lab Anim* 29, 269-275.
- Soria LE, Guerrero-Serna MG, Arias-Montañó JA (1996) Adrenoceptores: estructura, farmacología y mecanismos de transducción de señales. *Rev Biomed* 7, 105-109.
- Soriano-Mas C (2010) Comunicación neuronal. Transmisión sináptica. En: *Fundamentos de psicobiología* (1st edn). Redolar-Ripoll D, Moreno-Alcázar A, Robles-Muñoz N, Soriano-Mas C, Torras-García M, Vale AM (eds). UOC, Barcelona, España, pp 187-276.
- Starke K, Montel H, Gayk W, Merker R (1974) Comparison of the effects of clonidine on pre- and post-synaptic adrenoceptors in the rabbit pulmonary artery. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 285, 133-150.
- Starke K. Alpha-adrenoceptor subclassification (1981) *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 88, 199-236.
- Steffey EP (2001) Introducción a los fármacos que actúan sobre el sistema nervioso central y principios de anestesiología. En: *Farmacología y terapéutica veterinaria* (2nd edn). Adams HR (eds). Acribia S.A, Zaragoza, España, pp 161-180.
- Stell BM, Brickley SG, Tang CY, Farrant M, Mody I (2003) Neuroactive steroids reduce neuronal excitability by selectively enhancing tonic inhibition mediated by delta subunit-containing GABAA receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 14439-14444.
- Stephenson FA, Duggan MJ, Pollard S (1990) The gamma 2 subunit is an integral component of the gamma-aminobutyric acidA receptor but the alpha 1 polypeptide is the principal site of the agonist benzodiazepine photoaffinity labeling reaction. *J Biol Chem* 265, 21160-21165.

- Stirt JA, Berger JM, Roe SD, Ricker SM, Sullivan SF (1982) Cardiovascular effects of ketamine following administration of aminophylline in dogs. *Anesth Analg* 61, 685-688.
- Strader CD, Sigal IS, Dixon RA (1989) Structural basis of beta-adrenergic receptor function. *FASEB J* 3, 1825-1832.
- Sukiennik AW, Kream RM (1995) N-methyl-D-aspartate receptors and pain. *Current Op Anaesth* 8, 445-449.
- Sumano-López HS, Camberos LO (2006) *Farmacología Veterinaria* (3rd edn). Mc Graw Hill, México DF, México.
- Swindle MM (2007) *Swine in the Laboratory: Surgery, Anesthesia, Imaging, and Experimental Techniques* (2nd edn). CRC Press, Boca Raton, FL, USA (Taylor & Francis).
- Taboada FM, Murison PJ (2010) Induction of anaesthesia with alfaxalone or propofol before isoflurane maintenance in cats. *Vet Rec* 167, 86-89.
- Takeuchi A (1995) Chemical restraint by medetomidine-ketamine and its cardiopulmonary effects in pigs. *Zentralbl Veterinarmed A* 42, 293-299.
- Talke P, Tayefeh F, Sessler DI, Jeffrey R, Noursalehi M, Richardson C (1997) Dexmedetomidine does not alter the sweating threshold, but comparably and linearly decreases the vasoconstriction and shivering thresholds. *Anesthesiology* 87, 835-841.
- Tamura J, Ishizuka T, Fukui S, Oyama N, Kawase K, Itami T, Miyoshi K, Sano T, Pasloske K, Yamashita K (2015b) Sedative effects of intramuscular alfaxalone to cats. *J Vet Med Sci* 77, 897-904.
- Tamura J, Ishizuka T, Fukui S, Oyama N, Kawase K, Miyoshi K, Sano T, Pasloske K, Yamashita K (2015a) The pharmacological effects of the anesthetic alfaxalone after intramuscular administration to dogs. *J Vet Med Sci* 77, 289-296.
- Tanelian DL, Kosek P, Mody I, MacIver MB (1993) The role of the GABAA receptor/chloride channel complex in anesthesia. *Anesthesiology* 78, 757-776.
- Taoda M, Adachi YU, Uchihashi Y, Watanabe K, Satoh T, Vizi ES (2001) Effect of dexmedetomidine on the release of [3H]-noradrenaline from rat kidney cortex slices: characterization of alpha2-adrenoceptor. *Neurochem Int* 38, 317-22.
- Taylor CW (1990) The role of G proteins in transmembrane signalling. *Biochem J* 272, 1-13.
- Terndrup TE, Paskanik AM, Fordyce WE, Kanter RK (1993) Development of a piglet model of status epilepticus: preliminary results. *Ann Emerg Med* 22, 164-170.
- Thurmon JC, Nelson DR, Christie GJ (1972) Ketamine anesthesia in swine. *J Am Vet Med Assoc* 160, 1325-1330.
- Thurmon JC, Tranquilli WJ (1986) Anesthesia for cardiovascular research. En: *Swine in Cardiovascular Research, Vol 1*. Stanton HC y Mersmann HJ (eds). CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp 39-59.
- Tretter V, Ehya N, Fuchs K, Sieghart W (1997) Stoichiometry and assembly of a recombinant GABAA receptor subtype. *J Neurosci* 17, 2728-2737.
- Trim CM, Gilroy BA (1985) Cardiopulmonary effects of a xylazine and ketamine combination in pigs. *Res Vet Sci* 38, 30-34.
- Trim CM, Colbern GT, Martin CL (1985) Effect of xylazine and ketamine on intraocular pressure in horses. *Vet Rec* 117, 442-443.

- Vainio OM, Bloor BC (1994) Relation between body temperature and dexmedetomidine-induced minimum alveolar concentration and respiratory changes in isoflurane-anaesthetized miniature swine. *Am J Vet Res* 55, 1000-1006.
- Valera S, Ballivet M, Bertrand D (1992) Progesterone modulates a neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89, 9949-9953.
- van der Kleijn E, van Rossum JM, Muskens ET, Rijntjes NV (1971) Pharmacokinetics of diazepam in dogs, mice and humans. *Acta Pharmacol Toxicol* 29, 109-127.
- van Zwieten PA (1988) Antihypertensive drugs interacting with α - and β -adrenoceptors. A review of basic pharmacology. *Drugs* 35, 6-19.
- van Zwieten PA, Chalmers JP (1994) Different types of centrally acting antihypertensives and their targets in the central nervous system. *Cardiovasc Drugs Ther* 8, 787-799.
- Venn RM, Bradshaw CJ, Spencer R, Brealey D, Caudwell E, Naughton C, Vedio A, Singer M, Feneck R, Treacher D, Willatts SM, Grounds RM (1999) Preliminary UK experience of dexmedetomidine, a novel agent for postoperative sedation in the intensive care unit. *Anaesthesia* 54, 1136-1142.
- Venn RM, Hell J, Grounds RM (2000) Respiratory effects of dexmedetomidina in the surgical patient requiring intensive care. *Crit Care* 4, 302-308.
- Vesselinovitch D y Wissler R (1979) Prevention and regression in animal models by diet and cholestyramine. *International symposium: state of prevention and therapy in human arteriosclerosis and in animal models* 26, 127-34.
- Vidal Marcos A, Sanz García M (1999) [Ketamine: other indications]. *Rev Esp Anestesiol Reanim* 46, 422.
- Vinik HR, Bradley EL Jr, Kissin I (1989) Midazolam-alfentanil synergism for anesthetic induction in patients. *Anesth Analg* 69, 213-217.
- Walker M, Chan D, Thom M (2007) Hippocampus and Human Disease. En: *The Hippocampus Book* (1st edn). Andersen P, Morris R, Amaral D, Bliss T, O'Keefe J (eds). Oxford University Press, NY, NY, USA, pp 770-777.
- Walsh VP, Gleseg M, Singh PM, Mitchinson SL, Chambers JP (2012) A comparison of two different ketamine and diazepam combinations with an alphaxalone and medetomidine combination for induction of anaesthesia in sheep. *N Z Vet J* 60, 136-141.
- Watanabe M, Mishina M, Inoue Y (1994) Distinct gene expression of the N-methyl-D-aspartate receptor channel subunit in peripheral neurons of the mouse sensory ganglia and adrenal gland. *Neurosci Lett* 165, 183-186.
- Wei F, Dubner R, Ren K (1999) Nucleus reticularis giganteo cellularis and nucleus raphe magnus in the brain stem exert opposite effects on behavioral hyperalgesia and spinal Fos protein expression after peripheral inflammation. *Pain* 80, 127-141.
- Weinger MB, Partridge BL, Henry AF (1995) Dexmedetomidine does not modify the neuromuscular blocking action of vecuronium in the anaesthetized rat. *Br J Anaesth* 74, 455-457.
- Weinger MB, Segal IS, Maze M (1989) Dexmedetomidine, acting through central alpha-2 adrenoceptors, prevents opiate-induced muscle rigidity in the rat. *Anesthesiology* 71, 242-249.
- White PF, Ham J, Way WL, Trevor AJ (1980) The use of a new short-acting barbiturate – pentothal sodium- as a general anesthetic in canine surgery. *Vet Rec* 49, 27-29.
- White PF, Way WL, Trevor AJ (1982) Ketamine--its pharmacology and therapeutic uses. *Anesthesiology* 56, 119-136.

- Wiech K, Kiefer R-T, Töpfner S, Preissl H, Braun C, Unertl K, Flor H, Birbaumer N (2004) A placebocontrolled randomised crossover trial of the NMethyl-D-Aspartic Acid Receptor Antagonist, memantine, in patients with chronic phantom limb pain. *Anesth Analg* 98, 408-413.
- Wikberg JES (1979) The pharmacological classification of adrenergic alpha-1 and alpha-2 receptors and their mechanisms of action. *Acta Physiol Scand (suppl)* 468, 1-110.
- Wilder-Smith OH, Ravussin PA, Decosterd LA, Despland PA, Bissonnette B (1999). Midazolam premedication and thiopental induction of anaesthesia: interactions at multiple endpoints. *Br J Anaesth* 83, 590-595.
- Winsnes M, Jeppsson R, Sjöberg B (1981) Diazepam adsorption to infusion sets and plastic syringes. *Acta Anaesthesiol Scand* 25, 93-96.
- Winters WD, Ferrer-Allado T, Guzman-Flores C (1972) The cataleptic state induced by ketamina: A review of the neuropharmacology of anesthesia. *Neuropharmacology* 11, 303-315.
- Wirth M (2011) Beyond the HPA axis: progesterone-derived neuroactive steroids in human stress and emotion. *Front Endocrinol* 2, 19 (ecollection 2011).
- Wright M (1982) Pharmacologic effects of ketamine and its use in veterinary medicine. *J Am Vet Med Assoc* 180, 1462-1471.
- Yoshikawa K, Murai Y (1971) Effect of ketamine on intraocular pressure in children. *Anesth Analg* 50, 199-202.
- Zaki S, Ticehurst K, Miyaki Y (2009) Clinical evaluation of Alfaxan-CD(R) as an intravenous anaesthetic in young cats. *Aust Vet J* 87, 82-87.
- Zornow MH, Fleischer JE, Scheller MS, Nakakimura K, Drummond JC (1990) Dexmedetomidine, an alpha 2-adrenergic agonist, decreases cerebral blood flow in the isoflurane-anesthetized dog. *Anesth Analg* 70, 624-630.

SHORT COMMUNICATION

Effects of intramuscular alfaxalone alone or in combination with diazepam in swine

Martín Santos González*, Blanca Torrent Bertrán de Lis* & Francisco J Tendillo Cortijo*

*Medical and Surgical Research Unit, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Madrid, Spain

Correspondence: Martín Santos, Medical and Surgical Research Unit, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Manuel de Falla 1, 28222 Madrid, Spain. E-mail: msantos.hpth@salud.madrid.org

Abstract

Objective To describe the use of intramuscular (IM) premedication with alfaxalone alone or in combination with diazepam in pigs.

Study design Randomised-controlled trial.

Animals Twelve healthy 2 month-old Landrace x Large White pigs weighing 21.3 ± 2.4 kg.

Methods Animals were distributed randomly into two groups: group A ($n = 6$) 5 mg kg^{-1} of IM alfaxalone; and group AD ($n = 6$) 5 mg kg^{-1} of IM alfaxalone + 0.5 mg kg^{-1} of IM diazepam mixed in the same syringe. The total volume of injectate was standardized at 14 mL by dilution in 0.9% sodium chloride. Pain on injection, the degree of sedation and the quality of and time to induction of recumbency were evaluated. Once pigs were recumbent, reflexes were evaluated. Pulse and respiratory rates and arterial oxygen saturation were recorded at 5 and 10 minutes after drug administration. Pigs were then moved to another room for subsequent anaesthesia.

Results Two animals of group A and one of group AD showed slight pain on drug injection. Time to lateral recumbency (in seconds) was shorter in group AD (mean $203 \pm \text{SD } 45$ range 140–260) than group A (302 ± 75 , range 220–420; $p < 0.05$). In group AD sedation was deeper, and on recumbency there was better muscle relaxation. When moved for anaesthesia, two pigs in Group A

showed slight resistance but did not vocalize. There were no differences in physiologic measurements between groups, although in both groups, respiratory rate was significantly lower at ten compared with five minutes post drug injection. There was no apnoea.

Conclusions and clinical relevance IM administration of alfaxalone combined with diazepam resulted in a rapid onset of recumbency and deep sedation, with minimal side effects. The combination might be useful for premedication, but volume of injectate will limit its use to small pigs.

Keywords alfaxalone, diazepam, immobilization, pig, premedication, sedation, swine.

Introduction

Alfaxalone is a synthetic neuroactive steroid, which activates the GABA_A receptor (Lan & Gee 1994), producing anaesthesia and some muscular relaxation. A previously used preparation (Saffan) consisted of alphaxalone and alphadolone, another weakly hypnotic steroid, which increased the solubility of alphaxalone, solubilized in Cremophor EL. Intramuscular (IM) administration of Saffan has been used in pigs at a dose rate of 6 mg kg^{-1} (Hall 1972; Cox et al. 1975) and, following sedation with azaperone, given intravenously (IV) at 2 mg kg^{-1} (Cox et al. 1975).

The new formulation of alfaxalone-2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin, (Alfaxan) has been used IV at a dose rate of $0.7\text{--}0.9 \text{ mg kg}^{-1}$ in pigs premedicated

SHORT COMMUNICATION

Effects of intramuscular dexmedetomidine in combination with ketamine or alfaxalone in swine

Martín Santos, Blanca T Bertrán de Lis & Francisco J Tendillo

Medical and Surgical Research Unit, Instituto de Investigación Sanitaria Puerta de Hierro-Majadahonda, Madrid, Spain

Correspondence: Martín Santos, Medical and Surgical Research Unit, Instituto de Investigación Sanitaria Puerta de Hierro-Majadahonda, Manuel de Falla 1, 28222 Madrid, Spain. E-mail: martin.santos@salud.madrid.org

Abstract

Objective To evaluate and compare the use of intramuscular (IM) premedication with dexmedetomidine in combination with ketamine or alfaxalone in pigs.

Study design Prospective, randomized, 'blinded' trial.

Animals Fourteen healthy 2-month-old Landrace × Large White pigs weighing 21.5 ± 0.6 kg.

Methods Animals were distributed randomly into two groups: group KD ($n = 7$) was given 10 mg kg^{-1} IM ketamine + $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ IM dexmedetomidine; and group AD ($n = 7$) was given 5 mg kg^{-1} IM alfaxalone + $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ IM dexmedetomidine mixed in the same syringe. Pain on injection, degree of sedation and quality of induction were scored. The time from induction of anaesthesia to recumbency was recorded. Once pigs were recumbent, reflexes were evaluated. Pulse and respiratory rates, end-tidal carbon dioxide and arterial oxygen saturation were recorded at 5 and 10 minutes after drug administration. Data were compared using a two-way ANOVA or a *t*-test for unpaired data as relevant. Data are presented as the mean \pm standard deviation (range).

Results Two animals in both groups showed slight pain on drug injection. The time to lateral recumbency in group KD [187 ± 34 seconds (153–230)] was similar to group AD [206 ± 36 seconds

(150–248)]. In group AD, sedation was deeper, and the quality of anaesthetic induction was smoother. When moved for anaesthesia, five pigs in group KD vocalized. There were no differences between groups in pulse rates, arterial oxygen saturation and end-tidal carbon dioxide; however, the respiratory rate at 10 minutes was significantly higher in group KD than in group AD.

Conclusions and clinical relevance IM dexmedetomidine in combination with ketamine in pigs induced moderate to deep sedation and fair to smooth induction of anaesthesia. When dexmedetomidine was combined with alfaxalone, sedation was deeper, and induction was of a better quality.

Keywords alfaxalone, dexmedetomidine, ketamine, pig, premedication.

Introduction

Because physical restraint is often difficult to apply to swine, the induction of anaesthesia by the intramuscular (IM) route offers several advantages. Ketamine and alfaxalone have been used as a major component for chemical restraint in pigs because they can be given by the IM route and induce rapid onset of action (Thurmon et al. 1972; Green et al. 1981; Santos González et al. 2013). However, when used alone ketamine leads to muscle tremors, extensor rigidity and panting (Thurmon et al. 1972; Green et al. 1981) and alfaxalone can cause muscular twitching (Keates 2003; Santos González et al. 2013). In order to improve muscle relaxation,