

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

Departamento de Medicina y Cirugía Animal



**EFFECTO DE LA ASOCIACIÓN DE DEXMEDETOMIDINA
Y MIDAZOLAM SOBRE LA CONCENTRACIÓN
ALVEOLAR MÍNIMA DE HALOTANO E ISOFLURANO
EN RATAS**

**MEMORIA PRESENTADA PARA OPTAR AL GRADO DE
DOCTOR POR**

Eva Rioja García

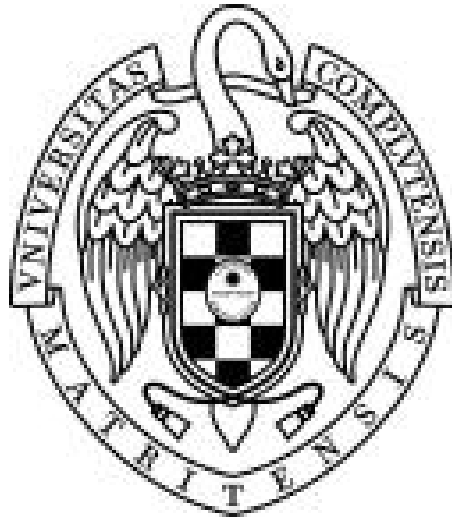
Bajo la dirección de los Doctores:

Francisco Javier Tendillo Cortijo
Martín Santos González

Madrid, 2004

ISBN: 84-669-2687-9

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE VETERINARIA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y CIRUGÍA ANIMAL



TESIS DOCTORAL

“EFECTO DE LA ASOCIACIÓN DE DEXMEDETOMIDINA Y
MIDAZOLAM SOBRE LA CONCENTRACIÓN ALVEOLAR
MÍNIMA DE HALOTANO E ISOFLURANO EN RATAS”

AUTORA: Eva Rioja García

DIRECTORES: Francisco Javier Tendillo Cortijo
Martín Santos González

Madrid 2004

D. Francisco Javier Tendillo Cortijo, Doctor en Veterinaria, Técnico Titulado Superior del Servicio de Cirugía Experimental del Hospital Universitario Puerta de Hierro y Profesor Asociado del Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid.

D. Martín Santos González, Doctor en Veterinaria, Técnico Titulado Superior del Servicio de Cirugía Experimental del Hospital Universitario Puerta de Hierro y Profesor Asociado del Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid.

CERTIFICAN:

Que **Dña. Eva Rioja García**, Licenciada en Veterinaria, ha realizado bajo nuestra dirección el trabajo titulado: **“Efecto de la asociación de dexmedetomidina y midazolam sobre la concentración alveolar mínima de halotano e isoflurano en ratas”**, que ha sido desarrollado en el Hospital Universitario Puerta de Hierro en colaboración con el Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid para optar al grado de Doctor en Veterinaria.

Este trabajo reúne a nuestro juicio, las condiciones de originalidad y rigor metodológico necesarias para ser sometido a lectura ante el Tribunal correspondiente.

Madrid a 11 de Octubre de 2004

Fdo. Francisco J. Tendillo Cortijo

Fdo. Martín Santos González

A mi familia

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento a todas las personas que de alguna manera me han apoyado y prestado su ayuda para la realización de este trabajo.

Al Dr. Francisco J. Tendillo por aceptarme en su equipo y transmitirme los conocimientos necesarios para trabajar en el mundo de la investigación.

Al Dr. Martín Santos por su gran ayuda en el diseño y desarrollo del presente trabajo, así como por transmitirme su inquietud por saber más acerca de la anestesia.

Al Prof. Dr. José Luis Castillo-Olivares, Jefe del Servicio de Cirugía Experimental del Hospital Puerta de Hierro, por permitir que realizara este trabajo en su Servicio y poner a mi disposición los medios necesarios para tal fin.

A Luis por estar a mi lado siempre y por su gran corazón.

A las “niñas” Rocío, Luz, Lola, Lola, Puri y los “niños” Jero, Fernando, Juan, José, del Servicio de Cirugía Experimental del Hospital Puerta de Hierro, por su colaboración y amistad sin las cuales no hubiera podido realizar este trabajo.

A mis padres Teresa y Ricardo, mi hermana Lara, mis abuelos, tías y primas por soportar mis buenos y malos humores.

A mis compañeras del Servicio de Radiología del Hospital Clínico Veterinario de la UCM, Pilar, Isabel, Carmen, Isabel, Natalia, Hernán y Sonia, de los que he aprendido radiología y ecografía.

Al resto de miembros del Departamento de Medicina y Cirugía Animal, especialmente a las secretarías Laura y Olga, por su paciencia con todos nosotros.

Al Dr. Eduardo Jorge por el diseño tridimensional de las figuras.

A José Antonio Ibancovich por la realización de los vídeos utilizados para la defensa de tesis.

ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| Índice | i |
| Índice de tablas | iv |
| Índice de figuras | vii |
| Abreviaturas | x |
| Resumen | xii |
| Summary | xiii |
| 1. INTRODUCCIÓN | 14 |
| 1.1. AGONISTAS ADRENÉRGICOS ALFA-2..... | 14 |
| 1.1.1. Receptores adrenérgicos..... | 14 |
| - Clasificación de los receptores adrenérgicos..... | 14 |
| - Estructura de los receptores adrenérgicos..... | 17 |
| 1.1.2. Receptores adrenérgicos alfa-2 | 17 |
| - Mecanismos bioquímicos de respuesta celular..... | 17 |
| - Funciones fisiológicas de los receptores adrenérgicos alfa-2..... | 18 |
| - Subdivisión de los receptores adrenérgicos alfa-2..... | 19 |
| 1.1.3. Agonistas de los receptores adrenérgicos alfa-2..... | 21 |
| - Acciones farmacológicas..... | 21 |
| 1.1.4. Dexmedetomidina..... | 23 |
| - Mecanismo de producción del efecto sedante y analgésico..... | 25 |
| - Farmacocinética..... | 26 |
| - Farmacodinamia..... | 27 |
| - Efectos adversos..... | 30 |
| 1.2. BENZODIACEPINAS..... | 31 |
| 1.2.1. Ácido γ -aminobutírico (GABA) y receptores GABAérgicos..... | 31 |
| - Farmacología y estructura del receptor GABA _A | 31 |
| - Modulación de los receptores GABA _A | 33 |
| 1.2.2. Benzodiazepinas..... | 34 |
| - Receptores GABA _A sensibles a benzodiazepinas..... | 34 |
| - Mecanismo de acción..... | 35 |

| | |
|---|-----------|
| - Acciones farmacológicas..... | 36 |
| 1.2.3. Midazolam..... | 38 |
| - Mecanismo de acción..... | 40 |
| - Farmacocinética..... | 40 |
| - Farmacodinamia..... | 42 |
| - Efectos adversos..... | 45 |
| 1.3. ANESTÉSICOS INHALATORIOS..... | 47 |
| 1.3.1. Historia..... | 47 |
| 1.3.2. Características físico-químicas..... | 48 |
| 1.3.3. Concentración alveolar mínima..... | 50 |
| 1.3.4. Mecanismo de acción..... | 52 |
| 1.3.5. Farmacocinética: captación y eliminación..... | 55 |
| 1.3.6. Acciones farmacológicas..... | 57 |
| 1.3.7. Efectos adversos..... | 60 |
| 1.3.8. Halotano vs isoflurano..... | 61 |
| - Características físico-químicas..... | 61 |
| - Concentración alveolar mínima..... | 63 |
| - Mecanismo de acción..... | 63 |
| - Biotransformación..... | 64 |
| - Farmacodinamia..... | 65 |
| - Efectos adversos..... | 67 |
| 1.4. INTERACCIÓN ENTRE AGENTES ANESTÉSICOS..... | 71 |
| 2. JUSTIFICACIÓN | 75 |
| 3. OBJETIVOS | 77 |
| 4. MATERIAL Y MÉTODO | 78 |
| 4.1. MATERIAL..... | 78 |
| - Animales..... | 78 |
| - Material y equipamiento..... | 79 |
| 4.2. MÉTODO..... | 80 |
| - Anestesia..... | 80 |
| - Preparación y monitorización de los animales..... | 81 |
| - Grupos de animales..... | 82 |
| - Determinación de la concentración alveolar mínima (CAM)..... | 84 |
| - Corrección de la CAM a la presión barométrica al nivel del mar..... | 85 |

| | |
|--|------------|
| - Estudio estadístico..... | 85 |
| - Cuantificación de la interacción farmacológica..... | 86 |
| 5. RESULTADOS | 92 |
| <hr/> | |
| 5.1. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)..... | 92 |
| 5.2. RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE TUKEY-KRAMER..... | 93 |
| - Parámetros cardiovasculares..... | 94 |
| - Parámetros respiratorios..... | 94 |
| - pH..... | 95 |
| - Temperatura | 95 |
| - Concentración alveolar mínima..... | 95 |
| 5.3. CUANTIFICACIÓN DEL TIPO DE INTERACCIÓN FARMACÓLOGICA..... | 96 |
| 6. DISCUSIÓN | 120 |
| 7. CONCLUSIONES | 138 |
| 8. BIBLIOGRAFÍA | 140 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|-------|
| Tabla 1. Funciones fisiológicas asociadas con los receptores alfa-2 adrenérgicos | 16 |
| Tabla 2. Agentes agonistas y antagonistas de los receptores GABA _A | 46 |
| Tabla 3. Propiedades físico-químicas del halotano y del isoflurano | 50 |
| Tabla 4. Algunos factores que afectan a la concentración alveolar mínima de los anestésicos inhalatorios | 68 |
| Tabla 5. Relevancia de los diferentes receptores específicos y canales iónicos como mediadores directos de la concentración alveolar mínima | 69-70 |
| Tabla 6. Concentración alveolar mínima de halotano y de isoflurano en diversas especies | 63 |
| Tabla 7. Resultados descriptivos del ANOVA para la FC (lpm) | 98 |
| Tabla 8. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro FC | 99 |
| Tabla 9. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para la FC | 99 |
| Tabla 10. Resultados descriptivos del ANOVA para la PAS (mmHg) | 100 |
| Tabla 11. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro PAS | 101 |
| Tabla 12. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para la PAS | 101 |
| Tabla 13. Resultados descriptivos del ANOVA para la PAD (mmHg) | 102 |
| Tabla 14. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro PAD | 103 |

| | |
|--|-----|
| Tabla 15. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para la PAD | 103 |
| Tabla 16. Resultados descriptivos del ANOVA para la PAM (mmHg) | 104 |
| Tabla 17. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro PAM | 105 |
| Tabla 18. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para la PAM | 105 |
| Tabla 19. Resultados descriptivos del ANOVA para la FR (rpm) | 106 |
| Tabla 20. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro FR | 107 |
| Tabla 21. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para la FR | 107 |
| Tabla 22. Resultados descriptivos del ANOVA para la PaO ₂ (mmHg) | 108 |
| Tabla 23. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro PaO ₂ | 109 |
| Tabla 24. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para la PaO ₂ | 109 |
| Tabla 25. Resultados descriptivos del ANOVA para PaCO ₂ (mmHg) | 110 |
| Tabla 26. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro PaCO ₂ | 111 |
| Tabla 27. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para la PaCO ₂ | 111 |
| Tabla 28. Resultados descriptivos del ANOVA para el pH | 112 |
| Tabla 29. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro pH | 113 |
| Tabla 30. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para el pH | 113 |

| | |
|---|-----|
| Tabla 31. Resultados descriptivos del ANOVA para la T ^a (°C) | 114 |
| Tabla 32. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro T ^a | 115 |
| Tabla 33. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para la T ^a | 115 |
| Tabla 34. Resultados descriptivos del ANOVA para la CAM (% vol) | 116 |
| Tabla 35. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro CAM | 117 |
| Tabla 36. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para la CAM | 117 |
| Tabla 37. Resultados descriptivos del ANOVA para el porcentaje de reducción de la CAM (%) | 118 |
| Tabla 38. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro % de reducción de la CAM | 119 |
| Tabla 39. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para el % de reducción de la CAM | 119 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Mecanismo de acción de los fármacos agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 en el LC para producir el efecto sedante | 21 |
| Figura 2. Localización anatómica del LC y sus principales proyecciones hacia otros lugares del SNC | 22 |
| Figura 3. Fórmula química desarrollada (izquierda) y tridimensional (derecha) de la dexmedetomidina | 24 |
| Figura 4. Receptor pentámero GABA _A y canal de cloro asociado | 32 |
| Figura 5. Fórmula química desarrollada (izquierda) y tridimensional (derecha) del midazolam | 39 |
| Figura 6. Gradientes de presión parcial (Pp) del anestésico inhalatorio durante las fases de inducción y recuperación anestésicas | 56 |
| Figura 7. . Fórmula química desarrollada (izquierda) y tridimensional (derecha) del halotano | 61 |
| Figura 8. . Fórmula química desarrollada (izquierda) y tridimensional (derecha) del isoflurano | 62 |
| Figura 9. Materiales y equipamiento utilizados para la realización del estudio | 87 |
| Fig. 9a. Bomba de infusión | 87 |
| Fig. 9b. Unidad de trabajo y vaporizadores | 87 |
| Fig. 9c. Suturas de seda, catéter de teflón para arteria, transductor de presión y prolongador de línea arterial | 87 |
| Fig. 9d. Circuito anestésico en T-Ayre y catéter para toma de muestras de gas tele-espriatorio | 87 |
| Fig. 9e. Otoscopio para intubación endotraqueal | 87 |
| Fig. 9f. Pinza hemostática Rochester-Pean | 87 |
| Fig. 9g. Unidad de calentamiento | 88 |
| Fig. 9h. Analizador de gases y pH | 88 |
| Figura 10. Método utilizado para la medición de la CAM | 88 |
| Figura 11. Procedimiento de intubación endotraqueal. Método de Weksler y col.(1994) | 89 |

| | |
|---|-----|
| Fig. 11a. Una vez inducida la anestesia, la rata se posiciona en decúbito supino | 89 |
| Fig. 11b. El otoscopio es introducido en la orofaringe y, mediante visualización directa, se inserta la guía de teflón en la laringe | 89 |
| Fig. 11c. El catéter de teflón, que servirá de tubo endotraqueal, se introduce a través de la guía y se desliza hasta la tráquea | 89 |
| Fig. 11d. Una vez asegurado el tubo al maxilar superior, se conecta al circuito anestésico en T-Ayre y al capnógrafo | 89 |
| Figura 12. Procedimiento de cateterización de la arteria carótida y de la vena caudal | 90 |
| Fig. 12a. Incisión en la piel ventral del cuello a nivel de la línea media | 90 |
| Fig. 12b. Abordaje quirúrgico de la arteria carótida | 90 |
| Fig. 12c. Separación de la arteria carótida con dos suturas de hilo de seda | 90 |
| Fig. 12d. Inserción del catéter en la arteria carótida | 90 |
| Fig. 12e. Conexión del catéter arterial al prolongador de línea arterial y al transductor de presión | 90 |
| Fig. 12f. Cateterización de la vena caudal | 90 |
| Figura 13. Monitorización de los parámetros cardiovasculares, respiratorios y de la temperatura corporal | 91 |
| Fig. 13a. Conexión del tubo endotraqueal al circuito anestésico en T-Ayre y al capnógrafo | 91 |
| Fig. 13b. Catéter intra-arterial para la monitorización de la presión arterial invasiva | 91 |
| Fig. 13c. Termómetro intra-rectal | 91 |
| Fig. 13d. Catéter intravenoso para la administración de fármacos. | 91 |
| Figura 14. Representación gráfica de los valores medios \pm DT de la FC | 98 |
| Figura 15. Representación gráfica de los valores medios \pm DT de la PAS | 100 |
| Figura 16. Representación gráfica de los valores medios \pm DT de la PAD | 102 |
| Figura 17. Representación gráfica de los valores medios \pm DT de la PAM | 104 |
| Figura 18. Representación gráfica de los valores medios \pm DT de la FR | 106 |
| Figura 19. Representación gráfica de los valores medios \pm DT de la PaO ₂ | 108 |

| | |
|---|-----|
| Figura 20. Representación gráfica de los valores medios \pm DT de la PaCO ₂ | 110 |
| Figura 21. Representación gráfica de los valores medios \pm DT del pH | 112 |
| Figura 22. Representación gráfica de los valores medios \pm DT de la T ^a | 114 |
| Figura 23. Representación gráfica de los valores medios \pm DT de la CAM | 116 |
| Figura 24. Representación gráfica de los valores medios \pm DT de los porcentajes de reducción de la CAM | 118 |

ABREVIATURAS

A continuación se han enumerado las abreviaturas utilizadas en el presente trabajo por orden alfabético:

% Vol: Porcentaje de volumen

A: Superficie de la lámina

ADH: Hormona antidiurética

AMPc: Adenil monofosfato cíclico

ARNm: Ácido ribonucleico mensajero

ASA: American Society of Anesthesiologists

Br⁻: Bromo inorgánico

C: Concentración

C: Constante de difusión

CAM: Concentración alveolar mínima

CAM_{HAL}: Concentración alveolar mínima de halotano

CAM_{ISO}: Concentración alveolar mínima de isoflurano

CE₅₀: Concentración efectiva 50

Cl⁻: Cloro inorgánico

CP: Coeficiente de partición

DE₅₀: Dosis efectiva 50

DEX: Dexmedetomidina

DT: Desviación típica

E: Espesor de la lámina

EEG: Electroencefalograma

ETM: Error típico de la media

F⁻: Flúor inorgánico

FC: Frecuencia cardiaca

FDA: Food and drug administration

FR: Frecuencia respiratoria

GABA: Ácido γ - aminobutírico

GC: Gasto cardiaco

HAL: Halotano

ISO: Isoflurano

LC: Locus ceruleus

MAC: Minimum alveolar concentration

MID: Midazolam

N: Número de animales en cada grupo de estudio

P: Presión

P_A : Presión parcial alveolar

$PaCO_2$: Presión parcial de dióxido de carbono en sangre arterial

PAD: Presión arterial diastólica

PAM: Presión arterial media

Pamb: Presión ambiental

PaO_2 : Presión parcial de oxígeno en sangre arterial

PAS: Presión arterial sistólica

Pbar: Presión barométrica

P_p : Presión parcial

PV: Presión de vapor

P_v : Presión parcial venosa

PVS: Presión de vapor saturado

P_x : Presión parcial de un anestésico inhalatorio en la mezcla de gases

S: Solubilidad

SAL: Solución salina fisiológica

SNC: Sistema nervioso central

T^a : Temperatura

UCI: Unidad de cuidados intensivos

Vgas: Volumen de gas

RESUMEN

La dexmedetomidina, un agente agonista de los receptores adrenérgicos α_2 , y el midazolam, una benzodiazepina, presentan una interacción sinérgica en los efectos sedante y analgésico. El propósito del presente estudio consistió en evaluar la interacción que tiene lugar entre estos dos fármacos en el efecto de reducción de la concentración alveolar mínima (CAM) de halotano y de isoflurano. Para la realización de este trabajo se utilizaron un total de 59 ratas Wistar que fueron distribuidas de manera aleatoria en 8 grupos (N=7 ó 8), cuatro grupos de halotano (HAL) y cuatro grupos de isoflurano (ISO). Los grupos denominados SAL+HAL y SAL+ISO recibieron solución salina fisiológica, los grupos SAL+MID+HAL y SAL+MID+ISO recibieron un bolo intravenoso de midazolam (1 mg/kg), los grupos DEX+SAL+HAL y DEX+SAL+ISO recibieron una infusión intravenosa continua de dexmedetomidina (0.25 μ g/kg/min) y los grupos DEX+MID+HAL y DEX+MID+ISO recibieron tanto la infusión de dexmedetomidina (0.25 μ g/kg/min) como el bolo de midazolam (1 mg/kg). Durante todo el periodo anestésico se monitorizaron los parámetros cardiovasculares y respiratorios, así como la temperatura corporal, de todos los animales de estudio. Al final de cada experimento se realizó una gasometría arterial. La determinación de la CAM se realizó mediante la aplicación de un estímulo doloroso supramáximo, consistente en el clampaje de la base de la cola durante 60 segundos. Los datos fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía y un análisis de Tukey-Kramer para comparaciones múltiples, considerándose un nivel de significación estadística de $p < 0.01$. Los valores de CAM de halotano y de isoflurano, ajustados a la presión barométrica al nivel del mar y expresados como la media \pm la desviación típica, fueron $1.31 \pm 0.1\%$ para el HAL y $1.46 \pm 0.05\%$ para el ISO en los grupos control (SAL+HAL y SAL+ISO respectivamente). Los porcentajes de reducción de la CAM en los grupos SAL+MID fueron $26 \pm 11\%$ para el HAL y $20 \pm 9\%$ para el ISO, en los grupos DEX+SAL fueron $72 \pm 17\%$ para el HAL y $43 \pm 14\%$ para el ISO, y en los grupos DEX+MID fueron $90 \pm 5\%$ para el HAL y $78 \pm 5\%$ para el ISO. La interacción que presenta la dexmedetomidina con el halotano es mayor que con el isoflurano. La interacción del midazolam con ambos anestésicos inhalatorios es similar. La interacción que tiene lugar entre la dexmedetomidina y el midazolam en términos del efecto de reducción de la CAM es de tipo aditivo con el halotano y de tipo sinérgico con el isoflurano.

SUMMARY

Dexmedetomidine, an α_2 adrenoceptor agonist, and midazolam, a benzodiazepine, have synergistic interaction for the sedative and analgesic effects. The purpose of this study was to assess the type of interaction that takes place between these two drugs for the minimum alveolar concentration (MAC) reduction of halothane (HAL) and isoflurane (ISO). Fifty-nine Wistar rats were randomly allocated in 8 groups (N=7 or 8), four groups on halothane (HAL) and four groups on isoflurane (ISO) anaesthesia. SAL+HAL and SAL+ISO groups received saline solution, SAL+MID+HAL and SAL+MID+ISO groups received an intravenous bolus of midazolam (1 mg/kg), DEX+SAL+HAL and DEX+SAL+ISO groups received an intravenous continuous infusion of dexmedetomidine (0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) and DEX+MID+HAL and DEX+MID+ISO groups received both dexmedetomidine (0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) and midazolam (1 mg/kg). Cardiovascular, respiratory and temperature parameters were continuously monitored. At the end of each experiment arterial blood gases were analyzed. A supramaximum painful stimulus was applied for MAC determination, consisting of tail clamping at the base and to full ratchet lock for 60 seconds. Statistical analysis of data was made using a one-way ANOVA and a Tukey-Kramer test, considering a p-value < 0.01 statistically significant. Control MAC values adjusted to the barometric pressure at sea level, expressed as mean \pm standard deviation, were $1.31 \pm 0.1\%$ for HAL and $1.46 \pm 0.05\%$ for ISO in control groups (SAL+HAL and SAL+ISO respectively). Percentages of MAC reduction were $26 \pm 11\%$ for HAL and $20 \pm 9\%$ for ISO in SAL+MID groups, $72 \pm 17\%$ for HAL and $43 \pm 14\%$ for ISO in DEX+SAL groups, and $90 \pm 5\%$ for HAL and $78 \pm 5\%$ for ISO in DEX+MID groups. The interaction of dexmedetomidine with halothane is stronger than with isoflurane. The interaction of midazolam with both inhalant anaesthetics is similar. The interaction between dexmedetomidine and midazolam in terms of MAC reduction can be described as additive with halothane and synergistic with isoflurane.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. AGONISTAS ADRENÉRGICOS ALFA-2

1.1.1. RECEPTORES ADRENÉRGICOS

Los receptores adrenérgicos forman parte del sistema nervioso simpático mediando las diferentes acciones de las catecolaminas endógenas, constituyendo la noradrenalina el neurotransmisor principal de este sistema. 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. 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 (Mason y Angel, 1983; Mueller y col, 1975).

Clasificación de los receptores adrenérgicos

La primera clasificación de los receptores del sistema adrenérgico la realizó Ahlquist en 1948 basándose en sus acciones farmacológicas y no en su función excitatoria o inhibitoria, como ciertos investigadores habían sugerido previamente. Ahlquist estudió los efectos de 5 catecolaminas sobre 8 funciones fisiológicas diferentes, observando un efecto muy marcado de las catecolaminas sobre 5 de las funciones, no siendo igualmente potente el efecto ejercido en las otras 3 funciones. En base a esto

postuló la posible existencia de dos poblaciones diferentes de receptores adrenérgicos, a unos los llamó “alfa” y a otros “beta”.

Posteriormente, Lands y col (1967) dividieron los receptores beta adrenérgicos en β_1 y β_2 basándose en sus características farmacológicas. Estos autores compararon la potencia relativa de 15 aminos agonistas o simpaticomiméticas sobre la inducción de lipólisis, la estimulación cardiaca y la relajación de la musculatura lisa vascular y bronquial, lo que utilizaron para dividir los receptores beta adrenérgicos en β_1 y β_2 . La existencia de dos subtipos de receptores beta adrenérgicos ha sido demostrada posteriormente gracias al desarrollo de agentes antagonistas selectivos y mediante estudios de unión a ligandos (“radioligand binding studies”) (Minneman y col, 1979).

La subdivisión de los receptores alfa adrenérgicos ha recorrido un camino mucho más tortuoso que la de los receptores beta adrenérgicos. En 1971, cuatro grupos diferentes de investigadores de forma independiente sugirieron la existencia de receptores alfa adrenérgicos pre-sinápticos que regularían la liberación de noradrenalina (Farnebo y Hamberger, 1971; Kirpekar y Puig, 1971; Langer y col, 1971; Starke, 1971). Por ejemplo, Kirpekar y Puig (1971) sugirieron que “la noradrenalina que es liberada por estimulación nerviosa actúa sobre los receptores alfa adrenérgicos localizados en la membrana pre-sináptica para inhibir su propia liberación”. Más tarde, Dubocovich y Langer (1974) por un lado y Starke y col (1974) por otro, demostraron que los receptores alfa adrenérgicos pre-sinápticos y post-sinápticos eran diferentes, lo cual llevó a Langer (1974) a proponer que “el receptor alfa adrenérgico que media la respuesta del órgano efector se debería llamar α_1 , mientras que el receptor alfa pre-sináptico regulador de la liberación de neurotransmisor debería ser llamado α_2 ”. Esta primera subdivisión estaría basada en la supuesta localización anatómica y las funciones fisiológicas, estando localizados los receptores α_1 a nivel post-sináptico, mediadores de efectos vasoconstrictores y otros efectos simpaticomiméticos, mientras que los α_2 estarían localizados a nivel pre-sináptico, constituyendo los autorreceptores inhibidores que responden a la presencia de noradrenalina en la unión sináptica para inhibir una mayor liberación de neurotransmisor (Langer, 1974). Sin embargo, estudios posteriores revelaron la presencia de receptores α_2 a nivel post-sináptico en diversos tejidos orgánicos con distintas funciones fisiológicas (*Tabla 1*). Berthelson y Pettinger (1977), incluyeron dentro del concepto de receptores alfa adrenérgicos otros receptores, tales como los que se encuentran en los órganos neuroendocrinos, que eran similares a los receptores pre-sinápticos en términos de potencia frente a agentes agonistas y antagonistas. Estos autores sugirieron la existencia de, al menos, dos subtipos

farmacológicamente diferentes de receptores alfa adrenérgicos: los α_1 y los α_2 . La clasificación a partir de ese momento se comenzó a basar en la afinidad relativa de los diferentes agentes antagonistas por uno u otro tipo de receptor como criterio para su identificación (Starke, 1981).

| Localización | Función |
|--|---|
| Tejido adiposo | Inhibición de la lipólisis |
| Sistema nervioso central | Neurotransmisión, efectos complejos. |
| Adenohipófisis | Estimulación de la liberación de la hormona del crecimiento |
| Riñón (células yuxtarglomerulares) | Inhibición de la liberación de renina |
| Páncreas (células beta pancreáticas) | Inhibición de la liberación de insulina |
| Ojo | Reducción de la presión intraocular |
| Melanocitos | Inhibición del oscurecimiento de la piel inducido por la MSH en peces, ranas y lagartos |
| Plaquetas | Agregación |
| Presinápticamente en terminaciones nerviosas simpáticas y parasimpáticas | Inhibición de la liberación de neurotransmisores |
| Ganglios simpáticos | Hiperpolarización |
| Músculo liso de vasos | Contracción |

Tabla 1. Funciones fisiológicas asociadas con los receptores alfa-2 adrenérgicos (Scheinin y MacDonald, 1989)

En un intento de definir los mecanismos bioquímicos asociados a los subtipos de receptores previamente clasificados, Wikberg (1979) por un lado, y Fain y García-Sainz (1980) por otro, observaron que existía una correlación entre estos mecanismos y la respuesta farmacológica obtenida. Su hipótesis era que “los receptores α_1 median los efectos secundarios a una elevación intracelular de calcio y un aumento de fosfatidilinositol, mientras que los α_2 median los efectos derivados de una inhibición de la adenilato-ciclasa” (Fain y García-Sainz, 1980). Sin embargo, como ya denotaron Bylund y U’Prichard (1983), existen otros mecanismos bioquímicos involucrados, aparte de los descritos anteriormente, en la mediación de los efectos de los receptores alfa adrenérgicos, principalmente en el caso de los α_2 . Estudios de unión a ligandos evidenciaron y apoyaron de manera adicional la subdivisión α_1 y α_2 (Bylund, 1985; Nahorski, 1985). En la actualidad, cada uno de estos receptores está perfectamente diferenciado en función de su selectividad relativa frente a los diferentes agentes agonistas y antagonistas (Doze y col, 1989). Esta diferenciación se hace principalmente

en base a los agentes antagonistas yohimbina y prazosín, siendo el prazosín un potente inhibidor de los receptores α_1 , mientras que la yohimbina lo es de los α_2 .

Estructura de los receptores adrenérgicos

Los receptores alfa y beta adrenérgicos se sitúan en las células a nivel de la membrana plasmática. Por su superficie externa o extracelular se unen con el neurotransmisor correspondiente, y por la cara interna se acoplan a una unidad proteica, 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, mientras que los α_1 son estructuralmente diferentes. Los receptores muscarínicos, los dopaminérgicos, los serotoninérgicos, los opiáceos y los de la adenosina presentan una estructura similar a la de los receptores β y α_2 adrenérgicos (Hayashi y Maze, 1993).

1.1.2. RECEPTORES ADRENÉRGICOS ALFA 2

Estos receptores intervienen en la mediación de múltiples funciones fisiológicas en el sistema nervioso central y en los tejidos periféricos. Por este motivo, se vienen utilizando diversos fármacos con acciones tanto activadoras como bloqueantes de estos receptores, dando como resultado una gran diversidad de efectos en los diferentes órganos y tejidos. 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 α_2 son capaces de dar lugar a efectos deseables en anestesia, tales como: analgesia, efecto ansiolítico, sedación y simpatolisis. Gracias a estos efectos estos fármacos son muy utilizados en el campo de la anestesiología clínica, bien de manera aislada o como coadyuvantes de la anestesia general. Desde los años 70, los agonistas de los receptores α_2 también han sido utilizados de manera satisfactoria para el tratamiento de pacientes con hipertensión, migrañas y como coadyuvantes de terapias de desintoxicación en alcohólicos y drogo-dependientes. Además de estas aplicaciones, se ha estudiado la posible utilización de la clonidina, un agonista de los receptores adrenérgicos α_2 , para mejorar o atenuar la pérdida de memoria relacionada con la enfermedad de Alzheimer.

Mecanismos bioquímicos de respuesta celular

Los componentes moleculares que participan en la transducción de la señal para producir los efectos farmacológicos de los agentes agonistas de los receptores α_2 , incluyen un receptor adrenérgico α_2 post-sináptico y una proteína G sensible a la toxina

pertussis, los cuales se unen a la enzima adenilato ciclasa e inhiben su actividad, disminuyendo los niveles de AMP cíclico (AMPc) en el interior de la célula. Como consecuencia, se va a producir un descenso de la estimulación de protein-quinasas dependientes de AMPc y, por tanto, de la fosforilación de proteínas reguladoras y canales iónicos específicos. Sin embargo, en muchos casos el descenso en la producción de AMPc no es suficiente para mediar todos los efectos producidos por los receptores adrenérgicos α_2 (Correa-Sales y col, 1992). En respuesta a estos cambios, se va a producir una disminución de la conductancia al ión calcio en los canales de calcio voltaje-dependientes y un aumento de la conductancia al ión potasio, lo que conlleva a una hiperpolarización de la membrana celular (Doze y col, 1990). Estos efectos van a tener importantes consecuencias en la modulación simpático-adrenérgica del sistema nervioso central (SNC), en la liberación de neurotransmisores, en la contracción del músculo liso y en la fisiología cardiovascular (Limbird, 1980). La entrada de potasio en la célula y la consecuente hiperpolarización de la membrana son las causantes de la supresión del disparo neuronal, mientras que la disminución en la entrada de calcio a la célula puede ser la responsable del efecto inhibitorio sobre la secreción de neurotransmisores a nivel pre-sináptico (Hayashi y Maze, 1993).

Funciones fisiológicas de los receptores adrenérgicos alfa-2

En los tejidos periféricos, los receptores adrenérgicos α_2 ejercen diversas funciones fisiológicas (*Tabla 1*). En el sistema cardiovascular se encuentran localizados post-sinápticamente, junto con los α_1 , en las células musculares lisas de vasos sanguíneos, tanto venosos como arteriales, mediando acciones vasoconstrictoras (Ruffolo, 1985). 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 glicogenolisis 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 o 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 yuxtglomerulares; 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 (Weiner y Taylor, 1986; MacDonald y col, 1988; Hayashi y Maze, 1993).

En el SNC se encuentran en ganglios autonómicos tanto pre como post-sinápticamente. 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 .

Subdivisión de los receptores adrenérgicos alfa-2

Existen 3 subtipos de receptores adrenérgicos α_2 en función de sus características farmacológicas, cada uno de los cuales puede ser el responsable de algunas, pero no de todas, las acciones atribuidas a los agentes agonistas α_2 . Estos tres subtipos son:

- α_2 A
- α_2 B
- α_2 C

Ante la ausencia de agentes agonistas y antagonistas específicos de subtipo, se han intentado localizar y estudiar las funciones de los tres subtipos de receptores α_2 mediante técnicas de manipulación genética. En el SNC, el ARN mensajero (ARMm) para los receptores α_2 A se encuentra en todo el cerebro, especialmente en el Locus Ceruleus; el ARMm para los α_2 B ha sido encontrado únicamente en el tálamo; y el ARNm para los α_2 C se encuentra mayormente distribuido y expresado en los ganglios basales (MacDonald y Scheinin, 1995).

Los receptores alfa adrenérgicos del subtipo α_2 A están localizados pre-sinápticamente en el neocórtex humano (Feuerstein y col, 2000). También pertenecen a este subtipo la mayoría de los receptores adrenérgicos α_2 que se encuentran en la medula espinal humana (Fürst, 1999). En el perro, los receptores alfa adrenérgicos que se encuentran en el tronco encefálico pertenecen al subtipo α_2 A (Schwartz y col, 1999). 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 y col, 1997) y de la hipotensión mediada a nivel central (MacMillan y col, 1996). Todos estos efectos se obtienen tras la administración de los agentes agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 . También se le atribuye al subtipo α_2 A el efecto antiepiléptico asociado a un incremento de la actividad noradrenérgica (Janumpalli y col, 1998).

Por otro lado, los receptores del subtipo α_2 B 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 y col, 1996). Se ha sugerido incluso que el subtipo α_2 B 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 y col, 1995).

Por último, los receptores α_2 C son los responsables, junto con los α_2 A, 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 y col, 2002). Además, el subtipo α_2 C 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 y col, 2001). También se ha sugerido la participación de este subtipo en la función cardiovascular (MacDonald y col, 1997) y en la hipotermia inducida por algunos agentes agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 como la dexmedetomidina (Sallinen y col, 1997).

También se han encontrado 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 y col, 1992):

- α_2 C10, localizado en el cromosoma humano 10, que se corresponde con el α_2 A.
- α_2 C2, en el cromosoma humano 2, que se corresponde con el α_2 B.
- α_2 C4, en el cromosoma humano 4, que se corresponde con el α_2 C.

1.1.3. AGONISTAS DE LOS RECEPTORES ADRENÉRGICOS ALFA-2

Se dividen en tres grupos en función de su estructura química: las feniletilaminas (ej. ametilnoradrenalina), los imidazoles (ej. clonidina, dexmedetomidina) y las oxalozepinas (ej. azepexol).

Acciones farmacológicas

Cuando se administra un agente agonista de los receptores adrenérgicos α_2 se van a producir efectos sedantes, ansiolíticos y analgésicos derivados de sus acciones en el sistema nervioso central. El efecto sedante o hipnótico se atribuye, principalmente, a la habilidad de estos fármacos para inhibir la actividad noradrenérgica del Locus Ceruleus (LC), como consecuencia de la disminución de la entrada de iones calcio al interior de las neuronas y al aumento de la salida de iones potasio al exterior de las mismas (De Sarro y col, 1987; Correa-Sales y col, 1992) (*Figura 1*). Una parte del efecto hipnótico producido por estos fármacos también es debida al descenso de la neurotransmisión serotoninérgica en el hipocampo y en el LC (Rabin y col 1996).

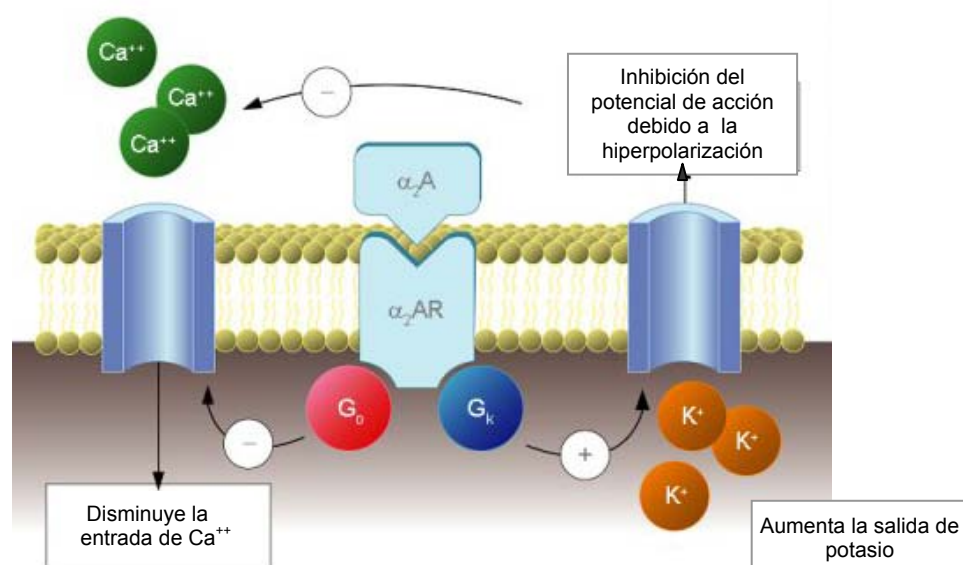


Figura 1. Mecanismo de acción de los fármacos agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 en el LC para producir el efecto sedante (adaptado de Maze, 2001; The Society of Neurosurgical Anesthesia and Critical Care Symposium; <http://dexmedetomidine.com/slideshow.asp>)

El LC es un pequeño núcleo neuronal constituido por varios miles de neuronas muy pigmentadas que se encuentra localizado bilateralmente en el puente del tronco encefálico, concretamente en el suelo del cuarto ventrículo (*Figura 2*). El LC es el centro noradrenérgico más importante y el mayor modulador de la consciencia. Presenta proyecciones difusas hacia todo el SNC, particularmente al cerebro, al núcleo talámico, al asta dorsal de la médula espinal y al sistema activador reticular (Jorm y Stamford, 1995).

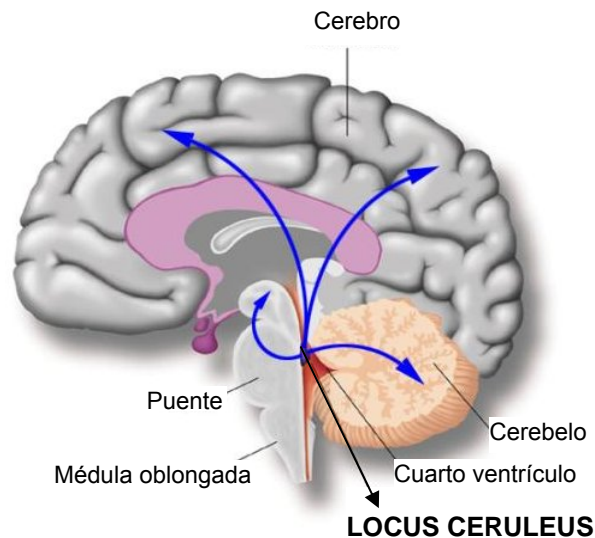


Figura 2. Localización anatómica del LC y sus principales proyecciones hacia otros lugares del SNC (adaptado de Maze, 2001; The Society of Neurosurgical Anesthesia and Critical Care Symposium; <http://dexmedetomidine.com/slideshow.asp>)

Por otro lado, producen un potente efecto analgésico. En un principio se pensaba que este efecto estaba mediado únicamente por los receptores α_2 situados en la médula espinal (Yaksh y Reddy, 1981), sin embargo, existen estudios que demuestran que también hay participación supra-espinal en la antinocicepción que se obtiene cuando se administran los agentes agonistas de estos receptores (Guo y col, 1996). Este efecto analgésico está mediado posiblemente por la activación de los receptores α_2 localizados en el LC y en el asta dorsal de la médula espinal, especialmente en la sustancia gelatinosa, donde deprimen la transmisión nociceptiva desde las fibras aferentes primarias hacia las neuronas aferentes secundarias del dolor, desde donde se proyectan las señales hacia centros superiores (Fürst, 1999). La acción analgésica de estos

agentes también se debe en parte a la activación colinérgica que tiene lugar en la médula espinal, como lo demuestra el incremento de acetilcolina en el líquido cefalorraquídeo tras la administración intratecal de estos fármacos (Klimscha y col, 1997). La analgesia producida por estos fármacos es incluso más potente que la de la morfina (Fielding y col, 1978), observándose además, un sinergismo en la acción antinociceptiva entre los agonistas α_2 y los agonistas opiáceos cuando se administran conjuntamente (Ossipov y col, 1990; Meert y De Kock, 1994). También se ha observado un fenómeno de tolerancia cruzada entre los agonistas de los receptores α_2 adrenérgicos y los agonistas de los receptores opiáceos μ (Kalso y col, 1993).

La acción más llamativa de los fármacos agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 , desde un punto de vista anestésico, es su capacidad para reducir los requerimientos anestésicos intraoperatorios de los agentes inhalatorios, como por ejemplo el halotano y el isoflurano (Segal y col, 1989; Savola y col, 1991a). Esta acción está mediada por la activación de los receptores adrenérgicos α_2 centrales tanto pre- como post-sinápticos (Segal y col, 1988; Segal y col, 1989; Kagawa y col, 1997).

1.1.4. DEXMEDETOMIDINA

Actualmente se está investigando el papel de cada uno de los tres subtipos de receptores α_2 adrenérgicos en la producción de cada uno de los efectos farmacológicos, de tal modo que se puedan desarrollar nuevos fármacos con afinidad específica por un subtipo determinado de receptor para obtener únicamente el efecto deseado en cada momento. Todavía no existen fármacos selectivos de subtipo, sin embargo, sí existen fármacos agonistas cada vez más selectivos de los receptores α_2 . Por ejemplo, la dexmedetomidina presenta una especificidad o cociente $\alpha_1:\alpha_2$ de 1:1620, el cual es más de 7 veces mayor que el de la clonidina, de tan solo 1:220, evitando, de este modo, los efectos indeseables que se producen como consecuencia de la activación de los receptores α_1 .

La dexmedetomidina es un agente agonista muy potente y altamente selectivo de los receptores adrenérgicos α_2 , que fue desarrollado y aprobado definitivamente por la FDA para su utilización en medicina humana en los Estados Unidos en 1999. Pertenece al grupo de los derivados imidazólicos, es de carácter lipofílico y químicamente se trata del clorhidrato de dexmedetomidina, siendo su nombre químico: (+)-4-(S)-[1-(2,3-dimetilfenil)etil]-1H-imidazol monoclorhidrato, su fórmula molecular: $C_{13}H_{16}N_2HCl$ (Figura 3) y su peso molecular: 236,7. La dexmedetomidina es el estereoisómero dextrogiro ó d-

isomero de la medetomidina, la cual es una mezcla racémica a partes iguales de los dos enantiómeros ópticos: d-medetomidina y l-medetomidina. 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 y col, 1991). 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 y col, 1991).

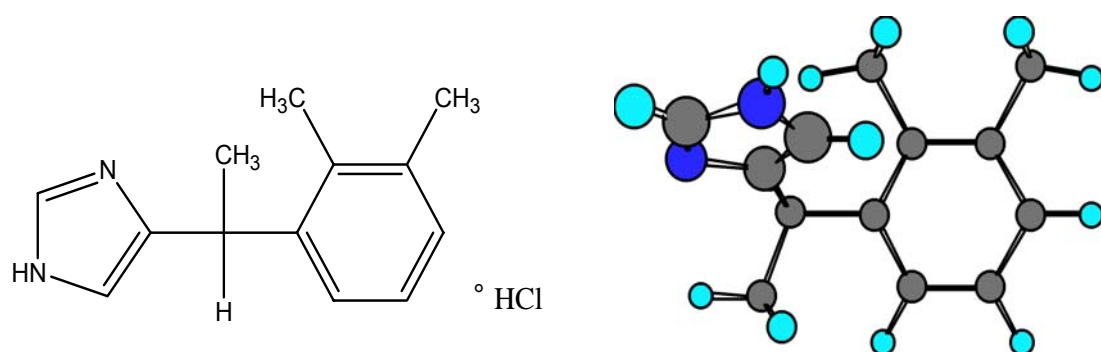


Figura 3. Fórmula química desarrollada (izquierda) y tridimensional (derecha) de la dexmedetomidina.

El clorhidrato de dexmedetomidina se comercializa en forma liofilizada, con un punto de fusión de 157°C. Es una sustancia 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 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 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 y col, 2002).

La dexmedetomidina ha despertado un gran interés en el campo de la anestesiología por sus efectos sedantes, ansiolíticos y analgésicos. Permite que los pacientes puedan despertarse fácilmente y cooperar, lo que le convierte en un fármaco especialmente útil en la unidad de cuidados intensivos (UCI). 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 y col, 1992). También se ha visto que es capaz de disminuir los requerimientos de otros fármacos anestésicos como los barbitúricos, los opiáceos (Scheinin y col, 1992), el propofol (Peden y col, 2001), la ketamina (Joo y col, 2000), el midazolam (Venn y col, 1999) y los agentes inhalatorios como el halotano (Segal y col, 1989) y el isoflurano (Savola y col, 1991a), tanto en los animales como en el hombre.

Mecanismo de producción del efecto sedante y analgésico

El efecto sedante de la dexmedetomidina está mediado, al igual que el de otros agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 , por una inhibición de la liberación de noradrenalina y por una disminución de la actividad simpática, principalmente a nivel de LC. Sin embargo, Rabin y col (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 y col (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 en sus terminales. El GABA liberado va a inhibir el disparo del núcleo tuberomamilar, lo que es necesario para el efecto sedante producido por la dexmedetomidina.

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 y col, 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 y col, 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 médula 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).

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, utilizándose modelos tanto bi- como tri-compartmentales.

Dyck y Shafer (1993) realizaron un estudio en personas sanas en el que determinaron los parámetros farmacocinéticos de la dexmedetomidina, administrada por vía intravenosa a una dosis de 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en infusión continua durante 5 min, tomando muestras arteriales y venosas durante las siguientes 24 horas post-infusión. Para determinar su perfil farmacocinético utilizaron un modelo tri-compartmental, introduciendo la edad, el peso, la altura, la masa corporal magra y la superficie corporal como co-variables, aunque observaron que estos parámetros no mejoraban el valor predictivo del modelo. Determinaron que el aclaramiento sistémico de la dexmedetomidina es de aproximadamente 0,5 litros/min, lo que constituye la mitad del flujo sanguíneo hepático. También observaron que la concentración de este fármaco en la sangre disminuía drásticamente una vez que finalizaba la infusión y que altas concentraciones iniciales disminuían el volumen de distribución inicial y el aclaramiento intercompartmental debido a su efecto vasoconstrictor a dosis elevadas. Concluyeron que la dexmedetomidina exhibe un perfil farmacocinético dependiente de la concentración de tipo no-lineal, 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.

Posteriormente, Bol y col (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 consecutiva, 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 y col (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.

La dexmedetomidina se metaboliza en el hígado y se elimina en forma de conjugados glucurónicos. La mayor parte de la misma es excretada por orina, y tan solo un pequeño porcentaje es eliminada por las heces. En estudios farmacocinéticos realizados en pacientes con daño renal grave se observó que existían unas diferencias muy pequeñas en los tiempos de eliminación de la dexmedetomidina en comparación con pacientes sanos (De Wolf y col, 2001).

Farmacodinamia

La dexmedetomidina es un fármaco muy potente. Provoca profundas alteraciones fisiológicas a concentraciones tan bajas como 1,0 η g/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. Estos efectos farmacodinámicos se ha comprobado que son muy similares en la rata y en el hombre (Bol y col, 1999).

1. Acciones en el SNC

Bol y col (1997) utilizaron el electroencefalograma (EEG), particularmente la banda de frecuencia de 0,5-3,5 Hz o actividad *delta*, y la pérdida de consciencia para medir el grado de depresión del SNC producido por la dexmedetomidina. El EEG basal en las ratas despiertas se caracteriza por señales de baja amplitud y alta frecuencia. Estos autores observaron que a medida que aumenta la concentración plasmática de dexmedetomidina se produce una progresiva disminución de la frecuencia de las señales del EEG y un aumento de su amplitud, que en ocasiones se superpone con los picos característicos del sueño. Sin embargo, en el estudio anteriormente citado se comprobó que la medición de estas señales electroencefalográficas tenía 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 (Scheinin y col, 1987; Bol y col, 1997).

Los efectos sedantes/hipnóticos y el bloqueo simpático-adrenal se obtienen a concentraciones plasmáticas de dexmedetomidina por debajo de 2,5 $\eta\text{g/ml}$, sin embargo, para conseguir el efecto analgésico y la pérdida del reflejo corneal se requieren unas concentraciones mayores, de $5,49 \pm 1,34 \eta\text{g/ml}$ y $24,5 \pm 12,3 \eta\text{g/ml}$ respectivamente (Bol y col, 1999). Además, se ha observado que el efecto analgésico no está claramente relacionado con la dosis en un rango de 0,25-1 $\mu\text{g/kg}$, lo cual indica la existencia de un posible efecto techo en la acción antinociceptiva de la dexmedetomidina (Jaakola y col, 1991).

2. Acciones hemodinámicas

Los estudios de Dyck y Shafer (1993) en personas y el de Bol y col (1997) en ratas muestran un efecto bifásico sobre la presión arterial por parte de la dexmedetomidina, en términos de presión arterial media (PAM), el cual es más acusado tras su administración intravenosa debido a los altos niveles plasmáticos alcanzados inicialmente. En un principio se produce 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. En cuanto a los efectos sobre la frecuencia cardíaca, inicialmente se produce una intensa bradicardia, seguida de una bradicardia más moderada después de un cierto tiempo post-administración. Dyck y Shafer (1993) recomendaron, en base a sus observaciones, que se debían mantener concentraciones plasmáticas por debajo de 1,0 $\eta\text{g/ml}$ para evitar la vasoconstricción periférica, y por tanto, la hipertensión resultante. Sin embargo, según el estudio de Bol y col (1997) se requieren unas concentraciones plasmáticas de $2,01 \pm 0,14 \eta\text{g/ml}$ para que se produzca el incremento de la PAM en ratas.

Este efecto sobre la presión arterial se debe a que a concentraciones plasmáticas elevadas, la dexmedetomidina se une a los receptores adrenérgicos α_2 localizados en los lechos vasculares periféricos, produciendo vasoconstricción y, por tanto, aumentando la PAM (van Zwieten y Chalmers, 1994). La bradicardia inicial tan marcada 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). 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 cardíaca (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 y col, 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 y col, 2000).

3. *Acciones respiratorias*

La dexmedetomidina ejerce un efecto bifásico sobre la ventilación, disminuyendo a dosis bajas e incrementando a dosis altas la ventilación de descanso. Sin embargo, no afecta a la respuesta respiratoria frente a la hipoxia a cualquier dosis (Nguyen y col, 1992). A pesar de todo, se considera que estos efectos sobre la ventilación son leves. Además se ha visto que la dexmedetomidina no potencia la depresión respiratoria inducida por los agonistas puros de los receptores opiáceos, como el alfentanilo (Fürst y Weinger, 1990).

4. *Acciones endocrino-metabólicas*

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. La concentración de noradrenalina plasmática se redujo hasta un 92% tras la administración de dexmedetomidina en voluntarios sanos (Kallio y col, 1989).

Belleville y col (1992) demostraron 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, en voluntarios sanos.

Se ha descrito, como un efecto propio de los fármacos agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 , el incremento de los niveles de glucemia inicialmente tras su

administración, el cual es dosis dependiente y vuelve a los niveles basales cuando termina su administración (Belleville y col, 1992).

5. Otras acciones

La dexmedetomidina provoca un descenso de la presión intraocular, por ello, se ha recomendado su utilización en cirugía oftálmica (Jaakola y col, 1992); ejerce una acción diurética y natriurética (Ruskoaho y Leppaluoto, 1989); evita el temblor, al igual que la clonidina (Talke y col, 1997); y se ha observado que ejerce una acción neuroprotectora en algunas especies animales (Hoffman y col, 1991).

En relación con el sistema gastrointestinal, la dexmedetomidina inhibe el vaciado gástrico, el tránsito gastrointestinal y causa sequedad de boca (Asai y col, 1997).

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

Efectos adversos

El efecto adverso más importante de la dexmedetomidina es la intensa bradicardia que produce, 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 y col, 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 y col, 1994) y en gatos anestesiados con enflurano (Miyazaki y col, 1999).

1.2. BENZODIACEPINAS

1.2.1. ÁCIDO γ - AMINO BUTÍRICO (GABA) y RECEPTORES GABAérgicos

El ácido γ -aminobutírico, más conocido como GABA, es el aminoácido más abundante y el principal neurotransmisor inhibitor del SNC en los mamíferos. 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 (McCormick, 1989). En 1971, Bloom e Iversen estimaron que aproximadamente un tercio de todas las sinapsis en el SNC son GABAérgicas.

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. Una vez liberado en las uniones sinápticas es capaz de activar tres tipos de receptores diferentes que se denominan: GABA_A, GABA_B y GABA_C (Mehta y Ticku, 1999). 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 y col, 1993).

El GABA_A es el receptor diana de numerosos fármacos sedantes, anestésicos generales y anticonvulsivantes como las benzodiazepinas, los barbitúricos, el propofol, los neuroesteroides, el etanol, etc... Cualquier compuesto que inhiba o aumente la funcionalidad del receptor GABA_A va a ser capaz de desequilibrar el balance que existe entre la excitación y la inhibición del SNC. Si ocurre un desequilibrio a favor de la excitación se producirá hiperexcitabilidad del SNC y, como consecuencia, se generarán descargas neuronales anómalas, como ocurre, por ejemplo, en la epilepsia (Roberts, 1986). Por el contrario, un desequilibrio a favor de la inhibición dará lugar a una disminución de la excitabilidad neuronal, que es la responsable de los efectos clínicos de numerosos agentes anestésicos y depresores del SNC.

Farmacología y estructura del receptor GABA_A

El receptor GABA_A es un complejo macromolecular con una estructura pentamérica que está asociado a un canal iónico para el cloro y se localiza tanto en el sistema nervioso central como en el periférico (*Figura 4*). Este receptor pertenece a una familia de receptores que poseen un canal iónico asociado (Schofield y col, 1987), cuya apertura está regulada por la unión del ligando específico al receptor. Las paredes del canal iónico están formadas por subunidades intrínsecas de la membrana plasmática, con el sitio de

unión al neurotransmisor regulador localizado en el mismo complejo macromolecular. El principal representante de esta familia lo constituye el receptor nicotínico para la acetilcolina (McCarthy y col, 1986). La unión del neurotransmisor regulador a su sitio dentro de la estructura hetero-oligomérica del receptor controla de forma alostérica la apertura y el cierre del canal iónico en un tiempo de milisegundos, sin que exista participación química alguna (Changeux y col, 1987).

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 (*Figura 4*). 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 y col, 1992).

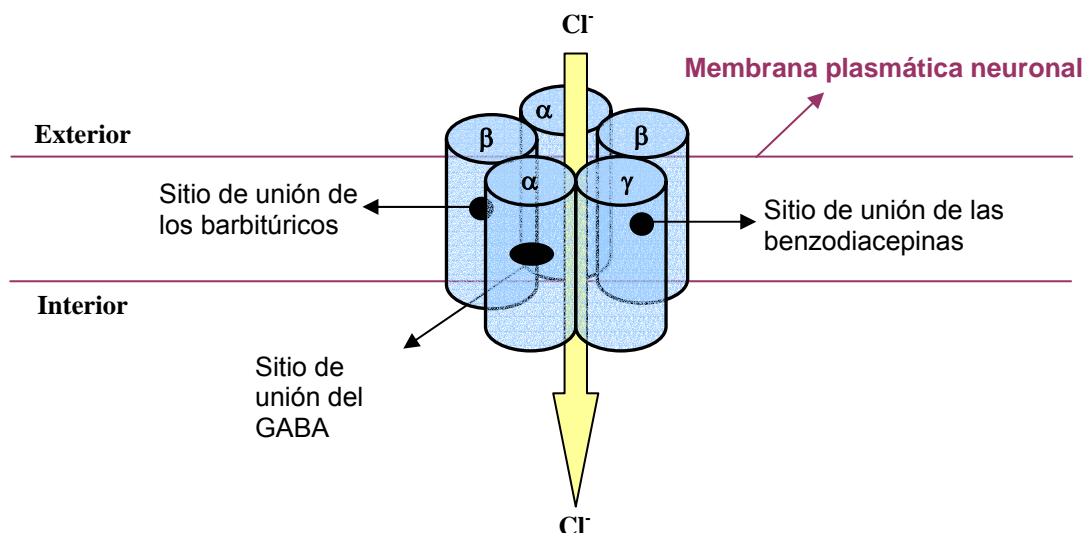


Figura 4. Receptor pentámero $GABA_A$ y canal de cloro asociado (adaptado de Valsecia, 2002; http://www.biologia.edu.ar/farmacologia/clas4to%5Cbenzodia_2002.PDF).

El receptor $GABA_A$ está formado por la combinación de 5 subunidades polipeptídicas, cada una de ellas a su vez está formada por 450-550 aminoácidos, dando lugar a una estructura pentamérica. Se han llegado a identificar hasta 18 clases de subunidades distintas, lo que conduce a la hipotética existencia de un número de subtipos del receptor $GABA_A$ muy elevado. Las subunidades que se han identificado son: α_1 - α_6 , β_1 - β_3 , γ_1 - γ_3 , δ , ϵ , π y ρ_1 - ρ_3 (Mehta y Ticku, 1999). 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 y col, 1993), o bien dos α , dos β y una γ (Chang y col, 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 y col, 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).

Existe una gran variabilidad de subunidades no solo en las diferentes regiones del cerebro, si no que también hay grandes cambios en un mismo individuo durante las distintas fases del desarrollo (Gambarana y col, 1991), así como diferencias interespecíficas.

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 si, pero que constituyen entidades moleculares distintas (Way y Trevor, 1988). Existen numerosas sustancias agonistas y antagonistas de estos receptores que ejercen su acción al unirse a alguno de estos sitios (*Tabla 2*).

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 o el etomidato. 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 y col, 1993).

1.2.2. BENZODIACEPINAS

Las benzodiazepinas pertenecen a un grupo de agentes muy utilizados en anestesiología por la capacidad que poseen de producir sedación, efecto ansiolítico, amnesia anterógrada y relajación muscular, aunque también se utilizan como estimulantes del apetito y como anticonvulsivantes. Se administran frecuentemente en el periodo preoperatorio y en la UCI, siendo el diazepam y el midazolam los representantes más importantes de este grupo farmacológico.

Receptores GABA_A sensibles a las benzodiazepinas

El sitio de unión o 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 inhibitor GABA, potenciando sus acciones en diversas localizaciones del SNC. A este receptor benzodiazepínico también son capaces de unirse otros compuestos que no son benzodiazepinas y que tienen en su estructura una β -carbolina, una imidazopiridina, una triazolopiridacina o una ciclopirrolona (Sieghart, 1995).

Los receptores GABA_A sensibles a la modulación por parte de las benzodiazepinas son 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 (Hevers y Lüddens, 1998; Mehta y Ticku, 1999; Möhler y col, 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 y col, 1990; Benke y col, 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 y col, 2000).

En la familia de los receptores asociados a un canal iónico, a la que pertenece el receptor GABA_A, los sitios de unión del neurotransmisor están formados por bucles de aminoácidos homólogos localizados en las interfases entre subunidades. Los sitios de unión de las benzodiazepinas en el receptor GABA_A presentan numerosos residuos de aminoácidos homólogos a los que se encuentran en el sitio de unión del GABA, pero están situados en diferentes regiones del receptor, ambos en interfases entre subunidades (Sigel y Buhr, 1997). Sin embargo, se cree que también deben existir residuos aminoacídicos no homólogos debido a la diferencia entre los tamaños

moleculares del GABA y de las benzodiazepinas, como el diazepam o el midazolam (Sigel y Buhr, 1997).

Los receptores benzodiazepínicos del SNC no son homogéneos, sino que existen como mínimo, dos tipos diferentes en función de su localización neuroanatómica y de la distinta afinidad por las benzodiazepinas y los fármacos afines (Lippa y col, 1982). El cerebelo y el cuerpo estriado contienen receptores benzodiazepínicos aparentemente de localización post-sináptica, denominados receptores tipo I. El hipocampo y las vías neuronales GABA-descendientes del núcleo caudado o la sustancia negra contienen receptores tipo II, con afinidades diferentes por los fármacos y presumiblemente de localización pre-sináptica (Lo y col, 1983).

Los receptores tipo I presentan una alta afinidad por el compuesto CL 218.872 (Tallman y Gallager, 1985), por los compuestos β -carbolínicos (Nielsen y Braestrup, 1980) y por el zolpidem (Arbilla y col, 1986), que es una imidazopiridina. Se ha comprobado que estos receptores poseen la subunidad α_1 en su estructura (Smith, 2001). Sin embargo, los receptores tipo II tienen una baja afinidad por estos compuestos, presentando en su estructura la subunidad α_2 , α_3 ó α_5 (Smith, 2001). Se ha descrito un tercer tipo de receptor benzodiazepínico con muy baja afinidad por el zolpidem (Ruano y col, 1992). Las benzodiazepinas no distinguen entre estos tipos de receptores benzodiazepínicos, uniéndose a ellos con la misma afinidad.

Por otro lado, se ha observado que los receptores GABA_A insensibles a la modulación por parte de las benzodiazepinas son los que poseen en su estructura pentamérica la subunidad α_4 o la α_6 (Smith, 2001).

Mecanismo de acción

Las benzodiazepinas pueden dar lugar a múltiples efectos, en función de la dosis, en el SNC. Estos agentes son bastante específicos tanto para sus lugares de acción como para sus efectos electrofisiológicos.

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, agonistas inversos y antagonistas (*Tabla 2*).

Las benzodiazepinas, como agentes agonistas de estos receptores, aumentan la conductancia al ión cloro en presencia de GABA o muscimol, no teniendo ningún efecto por sí solas sobre el flujo de cloro en ausencia de GABA o muscimol (Morrow y col, 1988). 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

inhibidora en diversas localizaciones del SNC como en la corteza cerebral, la sustancia negra, el hipocampo, el cerebelo y la médula espinal (Way y Trevor, 1988).

Los agonistas inversos disminuyen la conductancia al cloro, antagonizando, por tanto, las respuestas derivadas de la unión del GABA a su receptor, mientras que los antagonistas no tienen ningún efecto sobre el flujo de cloro, pero bloquean las acciones de los agonistas y agonistas inversos (Tanelian y col, 1993).

Estudios electrofisiológicos y estudios de unión demostraron que el mecanismo mediante el cual las benzodiazepinas aumentan la conductancia al cloro es, por un lado, incrementando la asociación del GABA a su receptor y, por otro, aumentando la unión de este neurotransmisor a sus sitios de unión en el receptor GABA_A de baja afinidad (Guidotti y col, 1978). Las benzodiazepinas aumentan la frecuencia de apertura de los canales de cloro en presencia de GABA 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).

Acciones farmacológicas

Las acciones más importantes de este grupo farmacológico son las ejercidas sobre el SNC, donde van a producir depresión y, por tanto, efectos derivados de la misma como efecto ansiolítico, sedación, relajación muscular, amnesia anterógrada y acción anticonvulsivante.

Se ha comprobado que las diferentes acciones farmacológicas de las benzodiazepinas, al igual que las propiedades de unión de los receptores benzodiazepínicos, dependen de las subunidades α que posea el complejo GABA_A. La subunidad α_1 está asociada a la farmacología del receptor tipo I, mediando las acciones sedativas y amnésicas de las benzodiazepinas (Rudolph y col, 1999), mientras que las subunidades α_2 (Löw y col, 2000) y α_6 (Hoffman y col, 2002) confieren la farmacología de los receptores tipo II, mediando las acciones ansiolíticas de las mismas. La miorrelajación está principalmente mediada por la subunidad α_2 , y tan solo a dosis altas se comprobó que la subunidad α_3 también está implicada, requiriéndose la ocupación de un mayor número de receptores para conseguir este efecto que el necesario para obtener el efecto ansiolítico (Crestani y col, 2001).

A nivel del SNC, las benzodiazepinas inducen una pérdida de consciencia de instauración lenta (2-3 minutos) tras la administración intravenosa (Reves y col, 1978), obteniéndose, sin embargo, un efecto meseta inferior al nivel necesario para que pueda considerarse un estado anestésico verdadero (Way y Trevor, 1988).

Se ha observado que tienen capacidad de reducir la CAM de varios agentes anestésicos inhalatorios en diversas especies animales y en el hombre (Melvin y col, 1982; Hall y col, 1988; Greiner y Larach, 1989; Schwieger y col, 1994), produciéndose una reducción progresiva de la misma, que es dosis dependiente, llegándose a un efecto techo a dosis altas a partir del cual no existe una disminución adicional de la CAM aunque se incremente la dosis de benzodiazepina (Perisho y col, 1971; Hall y col, 1988).

Se han realizado diversos estudios en ratas para evaluar las propiedades analgésicas de las benzodiazepinas y los resultados obtenidos han sido contradictorios. Hay estudios que demuestran la capacidad antinociceptiva de estos agentes (Zambotti y col, 1991; Kohno y col, 2000), mientras que hay otros en los que se observa una ausencia de efecto analgésico (Serrao y col, 1989; Tejwani y col, 1993) y otros en los que se ha visto que dan lugar a un aumento de la nocicepción, es decir, producen hiperalgesia (Tatsuo y col, 1999). Parece ser que estos efectos dependen de la vía de administración de las benzodiazepinas, de tal modo que cuando se administran por vía intratecal se produce antinocicepción, mientras que cuando son administradas por vía intraperitoneal o intracerebroventricular se obtiene el efecto contrario (Niv y col, 1988; Tatsuo y col, 1999). Los responsables del efecto analgésico de las benzodiazepinas son los receptores GABA_A de la médula espinal (Kohno y col, 2000), estando también implicados los receptores opiáceos tipo δ (Goodchild y col, 1996). Por otro lado, la unión de estos agentes a los receptores GABA_A supraespinales daría lugar al efecto hiperalgésico observado en algunos estudios (Tatsuo y col, 1999).

En combinación con otros fármacos utilizados en anestesia, las benzodiazepinas son capaces de potenciar su efecto o bien inhibirlo. Tal es el caso de la administración conjunta de una benzodiazepina con un opiáceo, habiéndose observado en ratas que a nivel espinal (vía intratecal) existe una potenciación del efecto analgésico del agente opiáceo por parte de la benzodiazepina, mientras que por el contrario, a nivel supraespinal (vía intracerebroventricular), ocurre una disminución de la antinocicepción producida por el fármaco opiáceo (Luger y col, 1995). Sin embargo, en cuanto al efecto hipnótico, existe un sinergismo claro entre las benzodiazepinas y los opiáceos (Vinik y col, 1989), así como entre las benzodiazepinas y el propofol (Short y Chui, 1991), los barbitúricos (Wilder-Smith y col, 1999) o los agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 (Salonen y col, 1992).

Otra acción farmacológica de las benzodiazepinas es su capacidad relajante muscular. Se ha visto que estos cambios en el tono muscular son debidos a su efecto sobre los reflejos espinales, siendo capaces de disminuir tanto los reflejos flexores como el tono muscular en ratas espásticas (Turski y Stephens, 1993). En esta acción están

implicados los receptores GABA_A presentes en las motoneuronas de la médula espinal (Möhler y col, 2002).

Las benzodiazepinas se han utilizado durante mucho tiempo, y se siguen utilizando, en el tratamiento de los estados epilépticos (“status epilepticus”) por su capacidad anticonvulsivante, además, poseen propiedades neuroprotectoras frente a la degeneración neuronal tras episodios de isquemia cerebral transitoria, lo que se ha comprobado en diversos estudios experimentales en roedores (Trojnar y col, 2002).

Se ha descrito la aparición de reacciones paradójicas tras la administración intravenosa de benzodiazepinas, caracterizadas por una repentina agitación, falta de descanso y ansiedad, apareciendo raramente agresividad. Todos estos efectos adversos son revertidos completamente por el flumaceniil, que es un fármaco antagonista de las benzodiazepinas (Robin y Trieger, 2002).

Se ha visto que la administración crónica de benzodiazepinas da lugar al desarrollo de tolerancia gradual frente al efecto relajante muscular y anticonvulsivante de las mismas, estando menos claro que tal tolerancia se desarrolle también frente a su efecto ansiolítico. Los estudios sobre los posibles mecanismos que dan lugar a tolerancia y dependencia a las benzodiazepinas son muy extensos y difíciles de interpretar, ya que los efectos derivados de la administración crónica de estos fármacos varían mucho en función de la benzodiazepina de la que se trate y del protocolo utilizado (Hutchinson y col, 1996).

1.2.3. MIDAZOLAM

El midazolam o Ro 21-3981 es una 1,4-benzodiazepina, cuya fórmula química es: 8cloro-6-(2-fluorofenil)-1-metil-4H-imidazo[1,5-a][1,4]benzodiazepina (*Figura 5*). Esta molécula fue sintetizada por primera vez en 1976 por Walser y Fryer (Walser y col, 1978). Posee un anillo imidazólico en su estructura, el cual hace que la solubilidad de este fármaco sea altamente dependiente del pH del medio en que se encuentre y que el metabolismo del mismo sea mucho más rápido que el de otras benzodiazepinas como el diazepam (Gerecke, 1983). A pH inferior a 4, el anillo se abre y se convierte en un compuesto hidrosoluble, por lo que la preparación inyectable es la sal clorhidrato tamponada hasta un pH de 3,5, no requiriendo la utilización de diluyentes como el propilenglicol, lo que disminuye la irritación local de los tejidos producida por el mismo y evita, también, la posibilidad de aparición de disritmias cardíacas (Reves y col, 1985; Nordt y Clark, 1997). A pH mayor de 4, por tanto al pH fisiológico de 7,4, el anillo imidazólico se cierra, convirtiéndose en un fármaco altamente liposoluble, lo que favorece

su paso a través de la barrera hemato-encefálica y un rápido inicio de sus acciones farmacológicas (2-3 minutos tras su administración intravenosa) (Arendt y col, 1983).

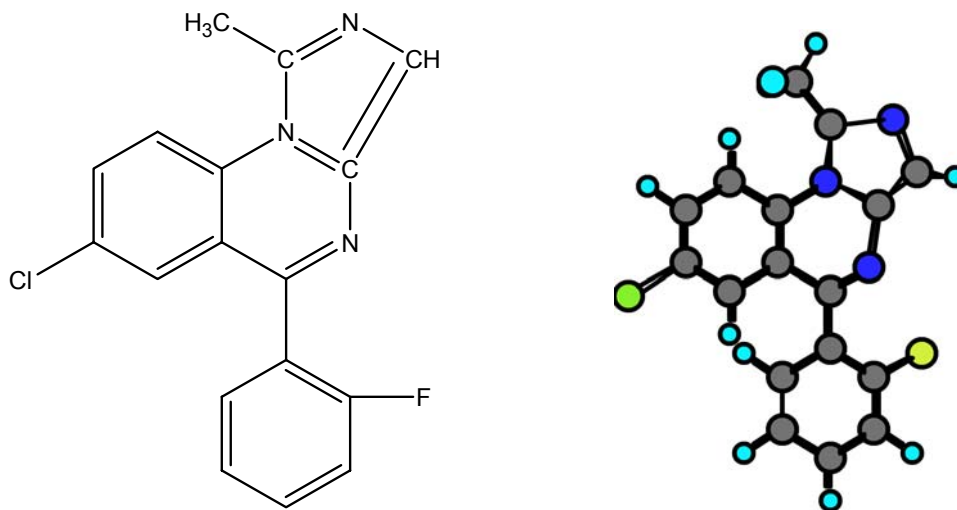


Figura 5. Fórmula química desarrollada (izquierda) y tridimensional (derecha) del midazolam.

Los efectos derivados de la administración del midazolam son los mismos que los del grupo farmacológico al que pertenece, es decir, efecto ansiolítico, sedación, relajación muscular, amnesia anterógrada y efecto anticonvulsivante. La potencia relativa del mismo, en comparación con otras benzodiazepinas, depende de la especie animal y del efecto examinado, siendo, en general, el midazolam más potente y teniendo una duración de los efectos más corta que el diazepam (Reves y col, 1983). En cuanto a su afinidad por los receptores GABA_A sensibles a las benzodiazepinas en el SNC, se ha comprobado en estudios *in vitro* que el midazolam presenta aproximadamente dos veces más afinidad por estos receptores que el diazepam (Möhler y Okada, 1977; Pieri y col, 1981).

El midazolam, al igual que otras benzodiazepinas, cuando es utilizado en la premedicación de la anestesia general, es capaz de reducir las dosis de inducción de otros agentes como los barbitúricos (Wilder-Smith y col, 1999) o el propofol (Short y Chui, 1991). En el periodo intraoperatorio se ha visto que es capaz de reducir la CAM de los anestésicos inhalatorios (Melvin y col, 1982; Hall y col, 1988). Además, la incidencia de aparición de efectos adversos, tales como náuseas ó vómitos, es baja (Reves y col, 1985).

Por todo ello, junto con la ventaja de poder ser administrado sin problemas asociados de tromboflebitis, la elevada velocidad de instauración de sus efectos farmacológicos y su corta vida media, lo convierten en un agente muy útil como

coadyuvante de la anestesia general equilibrada. También tiene una gran utilidad como agente sedante y amnésico en la UCI.

Mecanismo de acción

El midazolam es una benzodiazepina agonista de los receptores GABA_A, y como tal, presenta el mismo mecanismo de acción que el resto de los agentes de este grupo. Cuando se une al sitio de unión de las benzodiazepinas en estos receptores se produce un aumento de la conductancia al ión cloro, para lo cual es necesaria siempre la presencia de GABA o muscimol, potenciándose las acciones inhibitorias que ejercen estos neurotransmisores sobre la transmisión neuronal (Morrow y col, 1988).

Parece ser que el midazolam inhibe la captación y el metabolismo del GABA en las sinapsis neuronales, aumentando, por tanto, los niveles de este neurotransmisor en el espacio sináptico (Cheng y Brunner, 1981).

En un estudio realizado por Carlen y col (1985) se sugería que cuando el midazolam es administrado a dosis sedantes, es decir, a concentraciones nanomolares plasmáticas, su acción en las células piramidales del hipocampo se debe a un aumento de la conductancia al ión potasio mediada por el ión calcio, y no a las acciones del GABA. A mayores concentraciones, sus acciones son debidas al incremento de la inhibición de la transmisión neuronal producida por el GABA.

Farmacocinética

La estructura química del midazolam le confiere unas propiedades fisicoquímicas que lo hacen distinguirse de otras benzodiazepinas en términos de sus características farmacocinéticas y farmacodinámicas.

La aparición de los efectos derivados de la acción del midazolam sobre el SNC, tras su administración intravenosa, es muy rápida, ocurriendo una depresión máxima del mismo pasados 3 minutos (Whitwam y col, 1983). La gran velocidad de instauración de los efectos, comparada con la de otras benzodiazepinas, se debe a su elevada liposolubilidad a pH fisiológico y no a su mayor afinidad por los receptores benzodiazepínicos en el SNC (Arendt y col, 1987). Por vía intramuscular presenta una buena y rápida absorción, con una biodisponibilidad de más del 90% y una instauración del efecto sedante a los 5 minutos post-inyección, obteniéndose sus efectos máximos a los 15-30 minutos (Taylor y Simon, 1990). También puede ser administrado por vía oral, rectal e intranasal (Nordt y Clark, 1997).

La proporción de un fármaco libre en el plasma, o lo que es lo mismo, la fracción no unida a las proteínas plasmáticas, y no la concentración plasmática del mismo, es lo que

determina la cantidad de fármaco disponible para difundir hacia su lugar de acción. El midazolam se une en gran medida a las proteínas plasmáticas, principalmente a la albúmina, siendo su porcentaje de unión del 96-97%, independientemente de la dosis y la concentración plasmática existente (Moschitto y Greenblatt, 1983). Este grado de unión a las proteínas plasmáticas tan elevado contribuye a algunas de las características farmacodinámicas del midazolam, como las variaciones individuales en el tiempo de inducción, las dosis requeridas para obtener un determinado efecto y el tiempo de duración del efecto sedante (Reves y col, 1983). Por ello, los pacientes que poseen una baja concentración de albúmina sérica presentan un tiempo de inducción más rápido, al tener una mayor cantidad de fármaco libre disponible para cruzar la barrera hematoencefálica.

Mandema y col (1991) realizaron un estudio en el que determinaron las características farmacocinéticas y farmacodinámicas del midazolam administrado por vía intravenosa en la rata, utilizando para ello una ecuación bi-exponencial. Los valores fueron los siguientes:

- Aclaramiento: 67 ± 2 ml/min/kg
- Volumen de distribución en estado estable: $1,61 \pm 0,07$ l/kg
- Vida media terminal: 27 ± 1 minutos

En otro estudio de caracterización farmacológica del midazolam en ratas, realizado por Lau y col (1998), se obtuvieron los parámetros farmacocinéticos de este fármaco tras su administración intravenosa. Los valores se adecuaron a un modelo bi-compartimental abierto y fueron los siguientes:

- Aclaramiento: 2,34 l/h/kg
- Volumen de distribución al compartimiento central: 0,8 l/kg
- Volumen de distribución en estado estable: 1,75 l/kg
- Vida media de distribución: 4,2 minutos
- Vida media terminal: 39,2 minutos

Una vez alcanzado el equilibrio entre la concentración plasmática y la concentración en el líquido cefalorraquídeo de midazolam, la desaparición de este fármaco de estos dos lugares ocurre de forma paralela (Mandema y col, 1991).

El midazolam, al igual que el resto de las benzodiazepinas, es biotransformado en el hígado por oxidación microsomal, seguido de una conjugación glucurónica. En la especie humana, inicialmente sufre un proceso de hidroxilación por el citocromo P450-3A4, obteniéndose los metabolitos 1-hidroxi-midazolam y 4-hidroxi-midazolam, que son farmacológicamente activos, y también, pero en menor cantidad, se obtienen metabolitos

inactivos (Ziegler y col, 1983). En la rata, el midazolam es metabolizado principalmente por hidroxilación aromática, dando lugar a la formación de 4'-hidroxi-midazolam, 4'-hidroximetil-midazolam y dos benzofenonas. Todos estos metabolitos son posteriormente excretados como conjugados glucurónicos por las heces (81%) y por la orina (10%) (Woo y col, 1981).

Cuando el midazolam es administrado en ratas, tanto por vía intravenosa como oral, los metabolitos derivados de la biotransformación hepática que sufre el fármaco no contribuyen a sus efectos farmacológicos sobre el SNC (Mandema y col, 1991). Sin embargo, en la especie humana sí se ha observado una clara contribución del metabolito 1-hidroxi-midazolam en los efectos derivados del midazolam, principalmente tras su administración por vía oral (Heizmann y col, 1983).

Farmacodinamia

El midazolam ejerce sus acciones farmacológicas rápidamente, obteniéndose los efectos máximos pasados 2-3 minutos de su administración intravenosa, lo cual se debe a la elevada lipofilidad de este fármaco que permite un rápido equilibrio entre la concentración plasmática y el líquido cefalorraquídeo (Mandema y col, 1991).

Los efectos farmacodinámicos del midazolam son los mismos que los del resto de benzodiazepinas. Presenta una potencia relativa que depende de la especie y del efecto examinado (Reves y col, 1985). Tales efectos derivan de su acción depresora sobre el SNC y son: sedación, hipnosis, efecto ansiolítico, relajación muscular y efecto anticonvulsivante (Pieri y col, 1981). También da lugar a efectos cardiovasculares y respiratorios (Reves y col 1983).

1. Acciones en el SNC

Para poder medir de manera objetiva las acciones farmacológicas del midazolam sobre el SNC se han realizado diversos estudios, tanto en la rata como en el hombre, que relacionan la concentración plasmática del fármaco con las alteraciones observadas en el EEG (Breimer y col, 1990; Mandema y col, 1991). Estos efectos sobre el EEG constituyen los parámetros ideales, por su continuidad, sensibilidad, objetividad y reproductividad, para valorar la depresión del SNC que producen los fármacos con propiedades anestésicas (Dingemans y col, 1988).

La depresión del SNC derivada de la administración de midazolam no se puede considerar como un estado anestésico verdadero, como sí ocurre, por el contrario, en el caso de los barbitúricos y el propofol. Tras la administración intravenosa de midazolam se producen rápidamente desorientación, nistagmos y dificultad del habla en la especie humana, dando lugar, a continuación, a una pérdida de la consciencia pasados 2-3

minutos (Way y Trevor, 1988). Se utiliza muy a menudo para conseguir, lo que se denomina, un estado de “sedación consciente” y para la inducción anestésica.

Se ha observado que a concentraciones plasmáticas bajas el midazolam posee un efecto estimulante del SNC, mientras que el efecto sedante se produce cuando su concentración plasmática es alta (Lau y col, 1998).

El efecto ansiolítico derivado del midazolam se ha demostrado en múltiples estudios. Kataoka y col (1982) estudiaron este efecto en ratas mediante la inyección de este fármaco en los cuerpos mamilares posteriores del hipotálamo, lo que daba lugar a una disminución de la ansiedad de los animales, en base a lo cual se postuló que éste podría constituir el lugar de acción del midazolam para producir su efecto ansiolítico. En otro estudio realizado posteriormente en ratas, administrando midazolam por vía sistémica, se demostró la posible implicación de la región hipotalámica dorsomedial en la acción ansiolítica de esta benzodiacepina (Jardim y Guimaraes, 2001).

Otro efecto característico del midazolam es la amnesia anterógrada que produce. Dundee y Wilson (1980) observaron en humanos que una dosis intravenosa total de 5 mg de este fármaco, en pacientes adultos, daba lugar a una amnesia máxima a los 2-5 minutos, de unos 20 minutos de duración. Este efecto también se ha estudiado en ratas, mediante el test de aparición de miedo condicionado a un determinado contexto después de un estímulo negativo, observándose que esta amnesia se produce con dosis bajas de midazolam (0,37-3 mg/kg) como consecuencia de una alteración de los procesos de memoria, y no debido a procesos afectivos ni ansiolíticos (Pain y col, 2002).

El midazolam posee un efecto relajante del músculo esquelético (Pieri y col, 1981), es capaz de reducir la contractilidad diafragmática (Fujii y col, 2002) y de producir relajación del músculo liso de las vías aéreas (Haxhiu y col, 1989). Esta relajación muscular parece ser debida a su acción depresora sobre la médula espinal, pero también se ha demostrado que existe participación de centros supraespinales, como la sustancia negra, en la producción de este efecto (Turski y col, 1990).

Este agente posee capacidad anticonvulsivante, que ha sido demostrada en ratones mediante la utilización de electroshock y pentilenetetrazol (Pieri y col, 1981). Por este motivo, el midazolam se utiliza de manera habitual para el tratamiento del “estatus epilepticus” y de la epilepsia refractaria (Hirsch y Claassen, 2002). Además, el midazolam protege frente al daño neuronal inducido por isquemia cerebral transitoria (Ito y col, 1999), lo cual se debe, probablemente, a su capacidad de reducir la tasa de consumo metabólico de oxígeno cerebral y el flujo sanguíneo cerebral (Reves y col, 1985).

Existe controversia en cuanto a la capacidad antinociceptiva o analgésica del midazolam. Hay estudios que demuestran que este fármaco produce analgesia (Kohno y

col, 2000), mientras que otros indican que no posee tal capacidad, si no que, por el contrario, incrementa la nocicepción (Tatsuo y col, 1999). Parece ser que este efecto depende de la vía de administración y del lugar de acción de este fármaco, de tal manera que cuando se administra por vía intracerebroventricular o sistémica, debido a su acción en los centros supraespinales, se produce hiperalgesia, mientras que por vía intratecal da lugar a analgesia mediada por su acción a nivel de la médula espinal (Niv y col, 1988).

2. Acciones hemodinámicas

Los efectos cardiovasculares producidos por el midazolam son mínimos y similares en pacientes sanos y en pacientes con patología cardíaca o en los clasificados como ASA III y IV (Reves y col, 1985). Estos cambios consisten en una reducción de la presión arterial, un aumento de la frecuencia cardíaca, una disminución de la resistencia vascular sistémica y un mantenimiento del índice cardíaco y de las presiones cardíacas de llenado derecha e izquierda (Samuelson y col, 1981).

Se ha visto que la alteración de los parámetros hemodinámicos producida por el midazolam no es dosis-dependiente, por lo que posee un margen de seguridad relativamente alto. En un estudio realizado en perros despiertos, en los que se administraron 3 dosis diferentes de midazolam por vía intravenosa (0,25, 1 y 10 mg/kg), se observó que la dosis más alta administrada (hasta 15 veces superior a la necesaria para inducir hipnosis) no daba lugar a cambios hemodinámicos mucho más graves. La presión arterial media se redujo en un 10-20% con las dosis de 1 y 10 mg/kg, mientras que la frecuencia cardíaca y el gasto cardíaco aumentaron con las tres dosis en un 10-20% (Jones y col, 1979).

3. Acciones respiratorias

El midazolam da lugar a una depresión respiratoria que es dosis-dependiente, al igual que la mayoría de los agentes anestésicos. Estos efectos se han observado realizando estudios de respuesta al CO₂ en personas sanas, donde el midazolam producía una depresión del sistema respiratorio equivalente a la producida por dosis equipotentes de diazepam, siendo, sin embargo, diferente su duración: diazepam > midazolam (Forster y col, 1980). La mecánica ventilatoria no se altera de manera importante tras la administración de midazolam, ni tampoco provoca un estrechamiento de las vías aéreas (Gelb y col, 1983), lo cual indica que la depresión respiratoria probablemente se debe a la depresión directa del centro de control respiratorio en el SNC (Reves y col, 1985).

En un estudio realizado por Bol y col (2000) se observaron alteraciones mínimas de los parámetros PaO₂, PaCO₂, porcentaje de saturación de la hemoglobina y pH en las

ratas en las que se administró midazolam, cuando se alcanzaban unos niveles plasmáticos de fármaco de 2,5-20 µg/ml.

Roelofse y col (1986) realizaron un estudio para medir la saturación de oxígeno de la hemoglobina en pacientes sedados con midazolam, observando que, 10 minutos después de su administración intravenosa, se producía un descenso de la saturación hasta un mínimo del 92%, aunque este grado de saturación no persistía lo suficiente en el tiempo para resultar en una hipoxemia clínica.

Se han descrito episodios de apnea inducida por el midazolam, la cual parece ser dependiente de la dosis y de la velocidad de administración (Reves y col, 1985).

4. Acciones neuroendocrinas

El midazolam, como el resto de benzodiazepinas, no afecta de forma significativa a los niveles cerebrales de noradrenalina, dopamina o serotonina (Pieri y col, 1981).

5. Otras acciones

Se ha visto que el midazolam es capaz de reducir la conductancia de los potenciales de acción en el nervio ciático aislado de rata, sin embargo, su potencia como agente anestésico local es equivalente a 1/20 veces la de la procaína (Pieri y col, 1981).

En cuanto a sus efectos sobre el sistema gastrointestinal, el midazolam es capaz de inhibir la secreción de ácido gástrico y de proteger frente a la formación de úlceras gástricas inducidas por la administración de indometacina, sin embargo, no tiene efecto sobre la motilidad gastrointestinal ni sobre la salivación (Pieri y col, 1981).

Efectos adversos

Se han descrito casos de arresto cardio-pulmonar tras la administración de midazolam en niños y en personas de edad avanzada, lo que ocurre con mayor frecuencia cuando el midazolam se utiliza en combinación con los agentes opiáceos (Nordt y Clark, 1997).

Se han publicado 3 casos de bigeminismo o trigeminismo ventricular y taquicardia ventricular, 1 caso de angioedema y broncoconstricción y otro caso de reacción anafiláctica, pero son sumamente raros (Nordt y Clark, 1997).

Se han descrito en numerosas ocasiones las reacciones de desinhibición o reacciones paradójicas producidas por el midazolam, caracterizadas por repentina agitación, falta de descanso, ansiedad y, raramente, agresividad, aunque son poco frecuentes. Se ha sugerido que tales reacciones se deben a una posible participación colinérgica central, o bien son el resultado de un desequilibrio en los niveles de serotonina, o simplemente, constituyen una respuesta derivada de la activación de los receptores GABA_A sensibles a las benzodiazepinas (Robin y Trieger, 2002).

| |
|--|
| Agonistas de los receptores GABA_A |
| <ul style="list-style-type: none"> • GABA • Muscimol • Isoguvacina • Ácido isonipecótico • THIP clorhidrato • THPO hidrato |
| Antagonistas competitivos de los receptores GABA_A |
| <ul style="list-style-type: none"> • Bicuculina • SR-95531 |
| Antagonistas no-competitivos de los receptores GABA_A (bloqueantes de los canales de cloro) |
| <ul style="list-style-type: none"> • Picrotoxina • Penicilina (sitio exacto de acción no conocido) |
| Agonistas del sitio de unión de las benzodiazepinas (aumentan la conductancia al cloro en respuesta al GABA) |
| <ul style="list-style-type: none"> • Diacepam • Midazolam • Loracepam • Zolpidem • Clonacepam • Fluracepam |
| Agonistas inversos del sitio de unión de las benzodiazepinas (disminuyen la conductancia al cloro en respuesta al GABA) |
| <ul style="list-style-type: none"> • Ro 19-4603 • Ro 15-4513 • β-CCE • β-CCM |
| Antagonistas del sitio de unión de las benzodiazepinas (no tienen efecto por sí mismos pero bloquean el efecto de los anteriores) |
| <ul style="list-style-type: none"> • Flumacenil • β-CCP • Ro 14-7437 |
| Agonistas del sitio de unión de los barbitúricos |
| <ul style="list-style-type: none"> • Pentobarbital • Fenobarbital • (-)MPPB |
| Antagonistas del sitio de unión de los barbitúricos |
| <ul style="list-style-type: none"> • (+)MPPB |

Tabla 2. Agentes agonistas y antagonistas de los receptores GABA_A (modificado de Tanelian y col, 1993).

1.3. ANESTÉSICOS INHALATORIOS

1.3.1. HISTORIA

Los anestésicos inhalatorios se comenzaron a utilizar hace más de 150 años, siendo el dietil-eter el agente más usado tanto en medicina humana como veterinaria hasta la década de los 80. El mayor problema del dietil-eter es su gran capacidad inflamable, por lo que se buscaron nuevos compuestos menos peligrosos que pudieran ser utilizados en los quirófanos actuales, ya que éstos poseen una gran cantidad de aparatos eléctricos. Los compuestos halogenados fueron sintetizados por primera vez en los años 40 y su uso se empezó a extender a partir de los 80. El primero que se desarrolló fue el fluoroxeno en 1951, un etil vinilo que tuvo muy poco éxito debido a que era inflamable y producía náuseas y vómitos. El siguiente agente que se desarrolló fue el halotano, un alcano que tuvo un gran éxito desde que se comercializó en 1957, sin embargo, no se sintetizaron más alcanos, aparte del halotano, debido a que predisponen a la aparición de arritmias ventriculares inducidas por catecolaminas. Por este motivo, el interés se centró en los éteres, siendo el metoxiflurano el segundo éter disponible para los anestesiólogos desde 1960. En la búsqueda de nuevos agentes más potentes y con menos efectos depresores del sistema cardio-respiratorio, se desarrolló el isoflurano en 1965, sin embargo, su uso no fue autorizado hasta más de diez años después debido a la aparición de un estudio que sugería que este compuesto podía favorecer el desarrollo de neoplasia hepática en ratones (Corbett, 1976). Este estudio fue repetido utilizando un mayor número de animales de la misma estirpe y con diferentes concentraciones de isoflurano, observándose que no se desarrollaban tales neoplasias (Eger y col, 1978). Otros agentes que se sintetizaron posteriormente fueron el enflurano, el sevoflurano, y el más reciente y potente de todos, el desflurano. De todos estos agentes inhalatorios, los dos que más se utilizan actualmente en anestesia veterinaria son el halotano y el isoflurano.

En la actualidad aún se sigue buscando el agente inhalatorio ideal, el cual debe tener un largo periodo de conservación sin necesidad de añadir ningún otro compuesto, debe ser compatible con los actuales aparatos anestésicos, no muy caro, no inflamable y fácil de vaporizar bajo las condiciones ambientales habituales. El agente ideal también debe tener una baja solubilidad en la sangre, para poder cambiar rápidamente de plano anestésico y permitir una recuperación anestésica rápida y controlada, además debe ser muy potente, permitiendo, por tanto, conseguir un plano anestésico profundo con bajas

concentraciones alveolares. Por último, no debe producir depresión cardio-respiratoria ni irritación de las vías aéreas, debe ser compatible con las catecolaminas y con otros fármacos vasoactivos, producir una buena relajación muscular y no ser tóxico para los riñones, el hígado o el intestino (Dale y Brown, 1987; Steffey, 2001). Ninguno de los anestésicos inhalatorios disponibles en la actualidad reúne todas estas características, por lo que aún no existe el agente ideal.

1.3.2. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

Los anestésicos inhalatorios utilizados en la actualidad son compuestos orgánicos, excepto el óxido nítrico (N_2O), y se clasifican en base a su estructura química en:

- Alifáticos: con una cadena recta o ramificada.
- Hidrocarburos ó éteres: la estructura general consiste en dos radicales orgánicos (R) unidos a un átomo de oxígeno (R-O-R).

En la búsqueda de nuevos agentes menos reactivos, no inflamables y más potentes surgió la halogenación, que consiste en la adición de átomos de flúor, bromo o cloro a la estructura de los agentes inhalatorios. El cloro y el bromo convierten a los compuestos que poseen una baja potencia anestésica en agentes más potentes, mientras que el flúor, además de aumentar la potencia, también disminuye la solubilidad en la sangre de los compuestos (Eger, 1998). Sin embargo, algunos agentes fluorados, no todos, son tóxicos y altamente reactivos, por lo que muchas veces se sustituyen los átomos de flúor por bromo o cloro para aumentar la estabilidad a expensas de reducir la potencia anestésica y la solubilidad, como ocurre en el caso del halotano (Steffey, 2001). En general, aumentando el peso molecular del átomo de halogenado se aumenta la potencia anestésica y la solubilidad en sangre del agente (Targ y col, 1989).

Para administrar el anestésico inhalatorio al paciente se requiere un gas motriz que debe incluir siempre una concentración igual o superior a un 21% de O_2 . Se puede utilizar una fuente de O_2 al 100% o bien una mezcla de $O_2 + N_2O$ o de $O_2 +$ aire como gas motriz. También se necesita un vaporizador específicamente diseñado para el agente inhalatorio y un circuito anestésico adecuado al tamaño del paciente. La cadena de acontecimientos que tiene lugar desde que el agente es vaporizado hasta que alcanza el SNC ocurre gracias a una serie de propiedades físicas características de los anestésicos inhalatorios. Estas propiedades pueden dividirse en dos categorías: aquellas que determinan los métodos de administración y aquellas que afectan a la farmacocinética del agente.

a) Propiedades que determinan los métodos de administración

Los anestésicos inhalatorios pueden ser gases o vapores. Los gases son aquellos agentes que a la temperatura (T^a) ambiente (20-25°C) y a la presión barométrica del nivel del mar (760 mmHg ó 1 atmósfera) están en forma gaseosa, como es el caso del N_2O . Los vapores son los agentes que a T^a ambiente y al nivel del mar son líquidos, por lo que deben ser vaporizados para pasar al estado gaseoso, como es el caso del resto de los anestésicos inhalatorios actuales.

La presión de vapor (PV) de un anestésico inhalatorio es una medida de su capacidad para evaporarse o de ser vaporizado. La presión de vapor saturado (PVS) representa la concentración máxima de moléculas de un anestésico inhalatorio que puede haber en estado gaseoso a una T^a y una presión ambiental (P_{amb}) determinadas. La PVS indica la concentración máxima de anestésico que puede ser administrada al paciente y se calcula con la siguiente fórmula:

$$PVS = PV / P_{amb} \times 100$$

Otra propiedad física de los anestésicos inhalatorios es el punto de ebullición de un líquido, el cual se define como la T^a a la cual la PV del agente es igual a la presión atmosférica, por tanto, este punto disminuye a medida que aumenta la altitud puesto que la PV es constante pero la presión barométrica disminuye. El punto de ebullición de los agentes inhalatorios se mide, de manera estandarizada, a la presión barométrica que existe al nivel del mar.

a) Propiedades que determinan la farmacocinética del agente inhalatorio

La propiedad de los anestésicos inhalatorios de disolverse en un líquido o en un sólido viene determinada por la solubilidad del mismo en ese líquido o en ese sólido. Desde un punto de vista anestésico, nos interesa la solubilidad de los agentes inhalatorios en la sangre y en los diferentes tejidos del organismo, especialmente en la grasa. La solubilidad en sangre determina la tasa de captación del anestésico que hay en los alveolos por parte de la misma y su posterior distribución en el organismo, por tanto, determina la velocidad de inducción y de recuperación anestésica. La solubilidad en la grasa está estrechamente relacionada con la potencia anestésica y con la capacidad del anestésico inhalatorio de disolverse en los diferentes componentes del equipo anestésico (gomas, etc.). Esta propiedad es determinante a la hora de elegir el agente e indispensable su conocimiento para el adecuado manejo anestésico del paciente.

Cuando se habla de los anestésicos inhalatorios se suelen expresar las solubilidades en términos de coeficientes de partición (CP). El CP de un agente anestésico en un solvente es la proporción de ese agente que existe, en el momento del equilibrio, en las dos fases del solvente, como pueden ser por ejemplo, la sangre y el gas.

El CP describe la afinidad del anestésico por cada una de las dos fases que componen un solvente, es decir, indica cómo se reparte dicho agente entre las dos fases cuando se ha alcanzado el equilibrio.

Los dos CP más importantes desde un punto de vista anestésico son el CP sangre/gas y el CP aceite/gas. El CP sangre/gas es una medida de la velocidad de inducción, de recuperación y de cambio de plano anestésico, mientras que el CP aceite/gas está relacionado directamente con la potencia anestésica del agente (Steffey, 2001). Para medir el CP aceite/gas se utiliza el aceite de oliva en base a los trabajos realizados por Meyer (1899) y Overton (1901), aunque no hay ninguna similitud entre éste y la membrana lipídica de las células animales donde, según las teorías clásicas de la anestesia, interactúan los agentes anestésicos para ejercer su acción.

En la tabla 3 se detallan las propiedades físico-químicas más importantes del halotano y del isoflurano, que son los 2 agentes mayormente utilizados en la práctica anestésica veterinaria actual.

| | Halotano | Isoflurano |
|--|-----------------|-------------------|
| <i>Peso molecular</i> | 197 | 185 |
| <i>Punto de ebullición (°C)</i> | 50 | 49 |
| <i>Presión de vapor (mmHg)</i> | | |
| <i>20°C</i> | 244 | 240 |
| <i>24°C</i> | 288 | 286 |
| <i>Mililitros de vapor/mililitros de líquido a 20°C</i> | 227 | 194,7 |
| <i>Conservantes</i> | Si requiere | Ninguno |
| <i>Estabilidad en la cal sodada</i> | Se descompone | Estable |
| <i>CP sangre/gas</i> | 2,5 | 1,4 |
| <i>CP aceite/gas</i> | 224 | 91 |

Tabla 3. Propiedades físico-químicas del halotano y del isoflurano (tomado de Steffey, 2001).

1.3.3. CONCENTRACIÓN ALVEOLAR MÍNIMA

La concentración alveolar mínima (CAM) fue descrita por primera vez en un estudio realizado en 1963 por Merkel y Eger con halotano en perros, en el que observaron que este valor era reproducible y, por tanto, podía servir como un índice para comparar la potencia de los anestésicos inhalatorios. Hoy en día la CAM se ha convertido en una medida estándar, mundialmente aceptada, para la valoración y comparación de la

potencia anestésica de estos agentes. La CAM se define como la concentración mínima de anestésico inhalatorio en el alveolo necesaria para impedir el movimiento consciente y grosero en respuesta a un estímulo doloroso supramáximo en el 50% de los animales (Merkel y Eger, 1963). Por tanto, la CAM se correspondería con el concepto de dosis efectiva 50 (DE₅₀) utilizada para los agentes inyectables, que es la dosis con la cual la mitad de los animales estaría anestesiada y la otra mitad no.

La potencia anestésica de un agente inhalatorio es inversamente proporcional a su CAM (Eger y col, 1965) y directamente proporcional a su coeficiente de partición aceite/gas (Janoff y col, 1981), de tal manera que cuanto menor sea la concentración alveolar necesaria para evitar el movimiento de los animales en respuesta a un estímulo doloroso y mayor sea su CP aceite/gas, mayor es su potencia anestésica y viceversa.

La CAM se define en términos de porcentaje de volumen (% Vol) de anestésico inhalatorio a 1 atmósfera de presión, por tanto, es una medida que expresa la concentración de anestésico, y al mismo tiempo representa la presión parcial del mismo, en el alveolo. En la fase de equilibrio las presiones parciales de un agente anestésico son iguales en el alveolo, la sangre y el cerebro, por tanto, la CAM representa la presión parcial del anestésico inhalatorio en el cerebro, que es el lugar donde ejerce su acción (Quasha y col, 1980). La presión parcial de un determinado agente inhalatorio que se necesita en el cerebro para conseguir un nivel anestésico adecuado es siempre la misma, sin embargo, la CAM varía en función de la presión barométrica ambiental siguiendo la relación:

$$P_x = (C / 100) \times P_{\text{bar}}$$

Donde P_x es la presión parcial de un anestésico inhalatorio en la mezcla de gases; C es la concentración del anestésico en porcentaje de volumen (% Vol) y P_{bar} es la presión barométrica ó presión total de la mezcla de gases en mmHg. Sin embargo, la cantidad real de anestésico presente en un tejido depende tanto de la presión parcial del mismo como de su solubilidad, por lo tanto, aunque en el equilibrio las presiones parciales del gas son iguales en el alveolo y los diferentes tejidos orgánicos, las concentraciones varían entre ellos en función de la solubilidad del agente en los diferentes tejidos (Steffey, 1996).

En los primeros estudios de determinación de la CAM se observó que ésta era una medida muy consistente y reproducible, tanto en los animales como en el hombre, y que a partir de un determinado grado de intensidad dolorosa, la aplicación de un estímulo nociceptivo de mayor intensidad no aumentaba la CAM, considerando a aquel como un estímulo doloroso supramáximo (Eger y Saidman, 1965). La CAM se debe determinar siempre en animales sanos, bajo las condiciones de laboratorio y en ausencia de otros

fármacos o circunstancias habituales en la clínica que puedan modificar los requerimientos anestésicos (Quasha y col, 1980).

La dosis de un anestésico inhalatorio necesaria para que el 95% de los individuos no responda a un estímulo quirúrgico se ha visto que es un 20-40% mayor que la CAM en humanos. Se ha observado que una concentración de 1,5 veces la CAM de un anestésico inhalatorio induce una profundidad anestesia adecuada para la cirugía, mientras que una dosis correspondiente a 2 veces la CAM da lugar a un plano anestésico muy profundo, que puede llegar a producir una sobredosificación anestésica (De Jong y Eger, 1975; Steffey, 2001).

Existen diversos factores que pueden modificar la CAM de los agentes inhalatorios, como por ejemplo, la temperatura corporal, la concentración de determinados electrolitos y la administración concomitante de otros fármacos. Todos estos factores han sido estudiados ampliamente y son detallados en la tabla 4.

1.3.4. MECANISMO DE ACCIÓN

Existe una gran controversia en cuanto a los mecanismos de acción de los anestésicos inhalatorios en el SNC. Todavía se siguen investigando los posibles responsables moleculares de las diferentes acciones farmacológicas de los mismos. Se han realizado numerosos estudios moleculares, neurofisiológicos, neurofarmacológicos, de ingeniería genética y con animales vivos, que han permitido entender en gran parte dónde y cómo actúan los agentes inhalatorios. Sin embargo, aún no se conocen con exactitud todos los mecanismos moleculares implicados en las acciones anestésicas de estos fármacos.

Existen dos razones principales por las que resulta tan difícil explicar los mecanismos de acción de los anestésicos inhalatorios. La primera es por la dificultad de medir, e incluso de definir, la pérdida de consciencia, que es uno de los principales efectos de estos agentes. La segunda se debe al hecho de que los anestésicos inhalatorios se unen con baja afinidad a multitud de receptores o sitios de unión, muchos de los cuales no participan en la producción de la anestesia (Humphrey y col, 2002).

Actualmente los estudios se centran principalmente en intentar explicar el mecanismo de acción que da lugar al efecto inmovilizante de los anestésicos inhalatorios, que es lo que determina la CAM de los mismos (Sonner y col, 2003).

A principios del siglo 20, Overton y Meyer realizaron estudios de manera independiente que correlacionaban la potencia anestésica con la solubilidad en aceite de oliva, sugiriendo la importancia de una fase lipídica en los mecanismos de acción de los

agentes anestésicos. Para los anestésicos inhalatorios convencionales y muchos de los experimentales esta regla sí se cumple, sin embargo, existen otros compuestos que son más potentes de lo que cabría esperar por su CP aceite/gas. Tal es el caso de los alcoholes como el etanol, que posee un CP aceite/gas de 108 (Fang y col, 1997), muy cercano al del isoflurano de 98 (Cromwell y col, 1971), sin embargo, la CAM del isoflurano en ratas es 1,5% (White y col, 1974), que es más de 10 veces superior a la CAM de 0,1% del etanol (Fang y col, 1997). En el otro extremo están los compuestos no inmovilizantes, que no poseen ningún efecto anestésico, ni solos ni en combinación con agentes anestésicos, a pesar de tener un CP aceite/gas que haría prever una capacidad anestésica de los mismos (Koblin y col, 1994). El descubrimiento de agentes inhalatorios que desobedecían la hipótesis de Meyer y de Overton hizo que los investigadores se cuestionaran la teoría, hasta entonces aceptada, de que los sitios diana de estos agentes fueran de naturaleza lipídica.

En 1984, Franks y Lieb publicaron los resultados de un estudio en el que comprobaron que una gran cantidad de agentes anestésicos generales, entre los que se encuentran los anestésicos inhalatorios convencionales, son capaces de unirse de manera competitiva a receptores específicos, los cuales están conformados por proteínas. A partir de este momento los estudios se centraron en la identificación de proteínas, específicamente de canales iónicos, que constituyeran los lugares de acción de los anestésicos inhalatorios. Diversos estudios *in vitro* han encontrado un gran número de receptores o canales iónicos a los que son capaces de unirse los anestésicos inhalatorios, pero cuando estos mismos se han estudiado *in vivo*, se ha visto que muchos de estos receptores o canales probablemente no son los responsables de las acciones anestésicas de estos agentes, sin embargo, hay otros que sí podrían serlo (Sonner y col, 2003).

En cuanto a la localización exacta en el SNC donde ejercen su acción los anestésicos inhalatorios, para dar lugar a la inmovilidad del paciente cuando se le aplica un estímulo doloroso, se ha comprobado que es, principalmente, la médula espinal y no los centros supraespinales, aunque es en el cerebro donde actúan para producir la amnesia y la pérdida de consciencia (Antognini y Schwartz, 1993; Rampil y col, 1993; Antognini y Carstens, 1998). Hace ya más de una década se observó que la inmovilidad que tenía lugar durante la estimulación dolorosa no se correlacionaba con la actividad electroencefalográfica, lo cual llevó a postular que la actividad eléctrica cortical no controla las respuestas motoras generadas tras la aplicación de un estímulo nociceptivo (Rampil y Laster, 1992). En ratas, la descerebración a nivel precolicular o la sección completa de la médula espinal torácica superior afecta escasamente a la capacidad del

isoflurano para producir inmovilidad (Rampil y col, 1993; Rampil, 1994). Estudios electrofisiológicos *in vivo* sugieren que los anestésicos inhalatorios pueden suprimir tanto la actividad sensorial como motora a nivel de la médula espinal (Rampil y King, 1996; Jinks y col, 2003), siendo la depresión de las motoneuronas la responsable de la inmovilidad ante un estímulo doloroso o quirúrgico tanto en las ratas como en el hombre (Rampil y King, 1996; Zhou y col, 1998). Sin embargo, la localización exacta en la médula espinal donde los anestésicos inhalatorios actúan para producir inmovilidad se conoce tan sólo parcialmente, pero se ha sugerido que estas acciones son de una gran diversidad y complejidad, como lo demuestra, por ejemplo, el hecho de que al estimular la cola de una rata anestesiada con uno de estos agentes inhalatorios, se producen movimientos de las extremidades tanto superiores como inferiores (Sonner y col, 2003).

Los receptores y canales iónicos sobre los que actúan los anestésicos inhalatorios son muy diversos, pero no todos participan en las acciones anestésicas de los mismos. Para estudiar la participación de un receptor o de un canal iónico concreto en la inmovilidad producida por los anestésicos inhalatorios y, por tanto, ver su implicación en la CAM, se realizan experimentos *in vitro* que posteriormente son trasladados a estudios *in vivo* genéticos y farmacológicos. Si los tres tipos de estudios coinciden en los resultados obtenidos, entonces se puede asegurar que ese receptor o canal iónico participa en la producción del efecto derivado de ese fármaco.

Estudios *in vitro* en preparaciones de médula espinal aislada de animales sugieren que en el efecto inmovilizante de los anestésicos inhalatorios pueden estar involucrados receptores que producen tanto excitación (AMPA y NMDA) como inhibición neuronal (glicinérgicos y GABA_A), al provocar estos agentes una disminución de la excitación, en el caso de los primeros, o de un incremento de la inhibición, en el caso de los segundos (Wang y col, 1999; Cheng y Kendig, 2000; Wong y col, 2001). También se ha visto que ejercen una acción sobre los canales de sodio, lo que podría contribuir al efecto inmovilizante (Cheng y Kendig, 2002). Por otro lado, se ha visto que los receptores colinérgicos tienen un escaso o nulo papel en el desarrollo de la inmovilidad producida por los agentes inhalatorios (Wang y col, 1999).

Estudios *in vivo* genéticos y farmacológicos han aclarado, en parte, cuáles de estos receptores y canales iónicos son realmente los responsables del efecto inmovilizante que determina la CAM de los anestésicos inhalatorios (*Tabla 5*), pero todavía existen algunas dudas acerca de los mecanismos de acción exactos de estos agentes que deberán ser aclaradas en un futuro. Existen diferentes estudios que señalan a los receptores glicinérgicos como los principales responsables de la inmovilidad producida por los agentes inhalatorios (Zhang y col, 2001 y 2003b), mientras que otros miembros de la

misma familia a la que pertenecen estos receptores, como por ejemplo los GABA_A, probablemente no son los mediadores de esta inmovilidad (Zhang y col, 2004). Se ha visto que los receptores NMDA localizados en la médula espinal posiblemente también son mediadores del efecto inmovilizante producido por los anestésicos inhalatorios (Martin y col, 1995; McFarlane y col, 1995; Ishizaki y col, 1996; Stabernack y col, 2003). Otros receptores que son posibles candidatos, junto con los anteriores, en contribuir a la CAM de estos agentes son los 5-HT_{2A} y los canales de sodio, pero aún se necesitan más estudios que apoyen estas hipótesis (Himes y col, 1977; Lingamaneni y col, 2001; Zhang y col, 2003a). Además de los GABA_A, otros receptores que posiblemente no son los mediadores de la inmovilidad inducida por los anestésicos inhalatorios son los AMPA y los kainato (Joo y col, 2001), los receptores opiáceos (Harper y col, 1978), los receptores adrenérgicos α_2 (Rabin y col, 1996; Eger y col, 2003), los receptores 5-HT₃ (Rampil y col, 2001), los receptores colinérgicos (Flood y col, 2002) y los canales de potasio (Gerstin y col, 2003), aunque no se descarta que puedan mediar otros efectos anestésicos producidos por los agentes inhalatorios, como por ejemplo, la amnesia (Sonner y col, 2003).

1.3.5. FARMACOCINÉTICA: CAPTACIÓN Y ELIMINACIÓN

Para conseguir un nivel o plano anestésico adecuado se tiene que alcanzar una determinada concentración, y en el caso de los anestésicos inhalatorios, una presión parcial adecuada en el tejido donde ejercen sus acciones, es decir, en el SNC. El movimiento de las moléculas de un agente inhalatorio, al igual que las de O₂ y CO₂, ocurre debido a un gradiente de presión parcial entre 2 medios o tejidos siguiendo la *Ley de Fick*, de tal modo que el gas se mueve desde regiones con mayor presión a regiones con menor presión parcial hasta que se alcanza el equilibrio entre ambas, es decir, hasta que se igualan las presiones parciales del gas. Según la *Ley de Fick* el volumen de gas que difunde a través de una lámina de tejido en la unidad de tiempo (V_{gas}) es directamente proporcional a la superficie de la lámina (A), al gradiente de presión parcial a ambos lados de la misma ($P_1 - P_2$) y al coeficiente de permeabilidad del tejido para ese gas, también llamado constante de difusión (C), e inversamente proporcional al espesor de la lámina (E), siguiendo la siguiente fórmula:

$$V_{\text{gas}} = A / E \times C \times (P_1 - P_2)$$

Durante la fase de inducción anestésica la presión parcial (Pp) del anestésico inhalatorio a la salida del vaporizador es elevada, pero va a ir descendiendo progresivamente a medida que el gas pasa por el circuito anestésico, llega a los alveolos,

a la sangre y, finalmente, al SNC. Por el contrario, durante la fase de recuperación anestésica, el agente inhalatorio fluye en sentido contrario, es decir, va pasando desde el SNC, donde su P_p es alta, hacia el alveolo, donde su P_p es baja, y de ahí es eliminado al exterior (Figura 6).

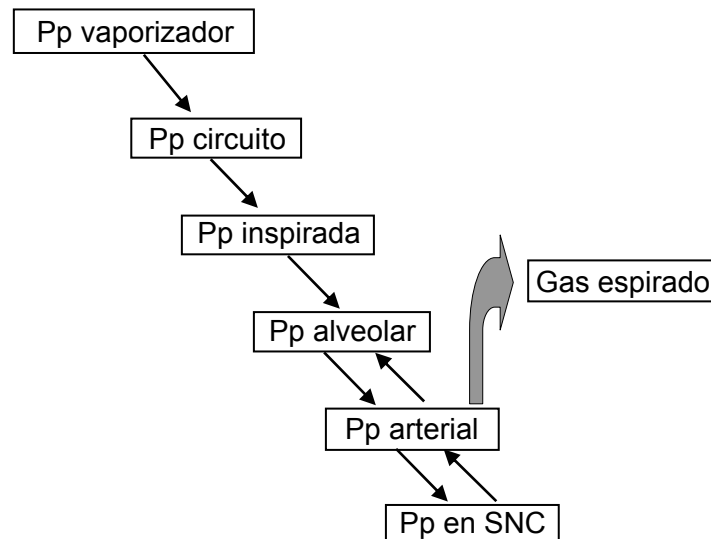


Figura 6. Gradientes de presión parcial (P_p) del anestésico inhalatorio durante las fases de inducción y recuperación anestésicas (adaptado de Steffey, 1996).

De todas estas presiones parciales, la más crucial es la P_p de anestésico alveolar, ya que al estar el SNC ricamente vascularizado, la P_p de anestésico en la sangre arterial rápidamente se va a equilibrar con la del SNC. Teniendo en cuenta que en un animal sin patología pulmonar el intercambio gaseoso a nivel alveolar es muy eficiente, la P_p de anestésico en la sangre arterial se iguala a la P_p de anestésico presente en los alveolos rápidamente. Por lo tanto, la P_p de un anestésico inhalatorio en el SNC se acerca en gran medida a la que hay en alveolo pasado un cierto tiempo, de tal manera que controlando la P_p de anestésico alveolar se puede controlar, indirectamente, la del SNC, que es la que determina la profundidad anestésica (Steffey, 1996). El tiempo que pasa hasta que las presiones parciales de un anestésico inhalatorio se igualan entre los alveolos, la sangre y el SNC se ha estimado en 15 minutos para el halotano, que es un agente muy soluble en sangre, por lo que para otros anestésicos inhalatorios menos solubles en sangre el equilibrio podría alcanzarse en un periodo de tiempo más corto (Eger y col, 1965).

El paso de un anestésico inhalatorio de los alveolos a la sangre arterial, también denominada captación del anestésico por la sangre, viene determinada por el producto

de tres factores: la solubilidad del agente en la sangre o CP sangre/gas (S), el gasto cardíaco (GC) y la diferencia entre las presiones parciales del anestésico en los alveolos y en la sangre venosa que retorna a los pulmones (P_A y P_V respectivamente, expresadas en mmHg) divididas entre la presión barométrica (P_{bar}) (Eger, 1990).

$$\text{Captación} = S \times GC \times (P_A - P_V / P_{bar})$$

La eliminación de un anestésico inhalatorio del organismo tiene lugar siguiendo los mismos principios que rigen la captación, pero en sentido inverso, estando influido por los mismos factores, es decir, la solubilidad del agente en sangre, el gasto cardíaco y la ventilación alveolar.

Las moléculas de gas que son capaces de dar lugar a una presión parcial en la sangre, y por tanto, pasar a los tejidos, son aquellas que no están disueltas. Por tanto, un agente que tenga un elevado CP sangre/gas se disuelve en sangre en una gran proporción, por lo que tardará más tiempo en pasar al SNC que otro que presente una menor solubilidad. Los agentes con una baja solubilidad en sangre dan lugar a una inducción anestésica y una recuperación rápidas, así como a un control más preciso de la profundidad anestésica, siendo, por tanto, mucho más seguros.

1.3.6. ACCIONES FARMACOLÓGICAS

Los efectos producidos por los anestésicos inhalatorios derivan, como ya se ha indicado, de sus acciones sobre diferentes receptores y canales iónicos localizados en el SNC, que dan lugar, en su conjunto, a una depresión del mismo y a un estado de anestesia general si son administrados a una concentración suficiente.

Existen diferencias entre los distintos agentes anestésicos inhalatorios en cuanto a determinados efectos farmacológicos producidos, especialmente en los efectos no deseables, lo cual sirve como criterio de elección de uno u otro agente en función del paciente y/o el tipo de procedimiento para el que va a ser utilizado. En muchas ocasiones se recurre a técnicas especiales de anestesia para evitar, o al menos minimizar, esos efectos adversos, como por ejemplo la técnica de la "anestesia equilibrada", que consiste en administrar dos o más fármacos para conseguir obtener el mismo efecto pero reduciendo la dosis de cada uno de ellos.

1. Acciones en el SNC

Todos los agentes inhalatorios producen una depresión reversible y generalizada del SNC. El grado de depresión producida se expresa, en términos anestésicos, como "profundidad anestésica", y depende de la concentración de anestésico en el SNC. Se ha visto que la actividad eléctrica cortical, representada por el EEG, sufre una serie de

cambios a medida que la profundidad anestésica aumenta, en base a lo cual se han intentado correlacionar diversos parámetros del EEG con el grado de profundidad anestésica, en términos de hipnosis (ej. índice biespectral) (Schneider y col, 2004).

En estudios realizados con diversos agentes inhalatorios se ha comprobado que algunos de ellos poseen capacidad epileptogénica, especialmente en pacientes con una predisposición por otra causa, siendo el enflurano el más epileptógeno de todos ellos (Joas y col, 1971; Nicoll, 1986).

Los anestésicos inhalatorios son unos potentes vasodilatadores, por lo que producen un aumento del flujo sanguíneo cerebral, lo cual hace que aumente la presión intracraneal (Matta y col, 1995). Este aumento de la presión intracraneal no suele dar problemas en pacientes sanos, sin embargo, sí puede producirlos en pacientes con un problema intracraneal previo, como por ejemplo, un tumor o una hemorragia.

2. Acciones cardiovasculares

Todos los anestésicos inhalatorios producen una depresión del sistema cardiovascular que es dependiente de la dosis y del agente del que se trate (Steffey y Howland, 1977; Hikasa y col, 1998). Los mecanismos que dan lugar a esta depresión son, por un lado, la acción directa de estos agentes sobre el miocardio y por otro, la disminución inducida de la actividad simpatoadrenal, lo que se traduce en una reducción de la contractilidad miocárdica, y por tanto, del gasto cardiaco y del volumen de salida del corazón o post-carga (Pagel y col, 1991).

En cuanto a sus efectos sobre la presión arterial, ocasionan una disminución dosis-dependiente de la misma, que está relacionada directamente con el descenso del gasto cardíaco, aunque, en algunos casos, se ha visto que la disminución de la resistencia vascular sistémica también puede participar en la producción de esta acción hipotensora de los anestésicos inhalatorios (Merin y col, 1991).

La frecuencia cardiaca (FC) se ve poco afectada por los anestésicos inhalatorios. Se ha observado que puede permanecer constante o incluso aumentar ligeramente en los animales anestesiados cuando es comparada con la FC basal. Normalmente la FC permanece constante en un rango clínico de concentraciones alveolares si no existen otros factores que la modifiquen (ej. estímulo doloroso) (Pagel y col, 1991).

La distribución del flujo sanguíneo entre los diferentes órganos se altera durante la anestesia inhalatoria, de tal manera que el flujo de sangre al cerebro aumenta, mientras que el del hígado y los riñones disminuye (Bernard y col, 1991; Matta y col, 1995).

Los anestésicos inhalatorios pueden aumentar el automatismo del miocardio y, por tanto, la probabilidad de que se propaguen los impulsos generados en lugares ectópicos,

especialmente ventriculares (Price, 1966). Este efecto se ve incrementado en presencia de agentes agonistas de los receptores adrenérgicos (Katz y Epstein, 1968).

Además algunos agentes inhalatorios, especialmente el halotano, pueden sensibilizar al corazón frente a los efectos arritmogénicos de las catecolaminas, de tal manera que la cantidad de adrenalina necesaria para producir complejos prematuros ventriculares es mucho menor en presencia de estos agentes (Joas y Stevens, 1971; Weiskopf y col, 1989).

3. Acciones respiratorias

Los pacientes anestesiados con agentes inhalatorios presentan una depresión respiratoria que es dosis-dependiente y variable entre las diferentes especies animales. En general, la ventilación espontánea se deprime progresivamente a medida que aumenta la profundidad anestésica, disminuyendo primero el volumen corriente y después la frecuencia respiratoria. La reducción del volumen minuto da lugar a una disminución de la ventilación alveolar, por lo que la presión parcial de CO₂ en la sangre arterial (PaCO₂) aumenta de forma directamente proporcional a la concentración de anestésico inhalatorio (Munson y col, 1966; Fourcade y col, 1971). Además, la estimulación de la ventilación en respuesta al aumento de la PaCO₂ y a la hipoxemia (disminución de la PaO₂) también está disminuida en los pacientes anestesiados con agentes inhalatorios, presumiblemente por la acción directa de los mismos sobre los quimioceptores medulares y periféricos (aórticos y carotídeos) (Knill y Gelb, 1978; Pavlin y Su, 1994).

Por otro lado los anestésicos inhalatorios son unos potentes broncodilatadores, por lo que son los agentes de elección para la anestesia de los pacientes con riesgo de padecer broncoconstricción (Hirshman y col, 1982).

a. Otras acciones

Todos los agentes inhalatorios producen una disminución dosis-dependiente del flujo sanguíneo renal y de la tasa de filtración glomerular, independientemente de la especie animal estudiada (Lhoest, 1976; Hartman y col, 1992). La consecuencia de ello es la producción de pequeños volúmenes de orina concentrada en los pacientes sanos durante la anestesia inhalatoria. También pueden aumentar los niveles plasmáticos de urea, creatinina y fosfatos inorgánicos, especialmente tras periodos de anestesia prolongados (Steffey y col, 1979 y 1993). El estado hemodinámico y de hidratación de los pacientes durante la anestesia influyen en la reducción de la funcionalidad renal. Estos efectos de los anestésicos inhalatorios sobre la funcionalidad renal se revierten rápidamente cuando finaliza la anestesia.

La funcionalidad del hígado también se reduce en los pacientes sometidos a anestesia inhalatoria como consecuencia de la disminución del flujo sanguíneo hepático (flujo arterial y flujo portal) y del oxígeno disponible (Hursh y col, 1987), lo cual puede generar un grado de hipoxia hepática variable.

Los anestésicos inhalatorios producen relajación muscular derivada de su acción depresora sobre el SNC (Dale y Brown, 1987). Además, aumentan el efecto relajante inducido por los fármacos bloqueantes de la placa neuro-muscular no-despolarizantes (Paul y col, 2002).

1.3.7. EFECTOS ADVERSOS

Algunos anestésicos inhalatorios, como el metoxiflurano y el enflurano, pueden dar lugar a nefrotoxicidad por el efecto directo de determinados compuestos derivados de su biotransformación (Steffey, 1996). El sevoflurano también puede producir nefrotoxicidad, pero en este caso se debe a la acción de un compuesto derivado de la degradación que sufre este agente en los absorbentes de CO₂ utilizados comúnmente en los circuitos anestésicos (cal sodada o baritada), el cual se denomina "compuesto A" (Morio y col, 1992).

Estos agentes también pueden producir un daño hepato-celular de extensión variable derivado, por un lado, de la posible hipoxia localizada (Shingu y col, 1982), y por otro, de la biotransformación que sufren estos fármacos, la cual da lugar a un proceso de acetilación de diversas proteínas que constituyen neo-antígenos con capacidad potencial para desarrollar una hepatitis inmuno-mediada (Reichle y Conzen, 2003). Histológicamente este daño hepático se caracteriza por una necrosis centro-lobular, que se manifiesta clínicamente por un aumento de los niveles plasmáticos de las enzimas hepáticas, pudiendo, incluso, dar lugar a un fallo hepático fulminante (Plummer y col, 1986; Steffey, 1996).

Un importante efecto adverso de los agentes inhalatorios, que puede conducir a la muerte del paciente, es el desarrollo de hipertermia maligna derivada de una reacción hipermetabólica del músculo estriado en individuos genéticamente susceptibles, que da lugar a rigidez musculoesquelética, un rápido aumento de la temperatura corporal, acidosis metabólica, taquicardia, taquipnea, un gran consumo de oxígeno y una elevada producción de CO₂, que se manifiesta con un aumento del CO₂ tele-espiratorio (Ali y col, 2003). La hipertermia maligna se produce como consecuencia de una pérdida aguda del control intracelular del calcio, dando lugar a una liberación incontrolada del mismo desde el retículo sarcoplasmático, a la vez que se inhibe su recaptación, por lo que la

contracción muscular se hace persistente (Ali y col, 2003). Las especies más predispuestas a este síndrome son, principalmente, la especie humana y los cerdos. El agente que se relaciona más frecuentemente con este efecto adverso es el halotano, sin embargo, se ha comprobado que otros compuestos, como el isoflurano y el enflurano, también son capaces de producir este síndrome en los pacientes genéticamente susceptibles (McGrath y col, 1981).

1.3.8. HALOTANO VS ISOFLURANO

El halotano constituye, normalmente, el anestésico inhalatorio de referencia para la realización de estudios experimentales de comparación entre agentes. Ha sido muy utilizado para la práctica de la anestesia clínica humana y veterinaria en todo el mundo, hasta que se introdujeron nuevos compuestos, como el isoflurano, el sevoflurano y el desflurano, que poseen una menor toxicidad hepática y no sensibilizan al miocardio frente a las catecolaminas, por lo que lo han sustituido en gran medida. En España, tanto el halotano como el isoflurano son muy utilizados en el campo de la anestesiología veterinaria, mientras que en medicina humana lo son el isoflurano y el sevoflurano.

Características físico-químicas

El halotano es un etano poli-halogenado (CF_3CHClBr) (Figura 7) mientras que el isoflurano es un metil-etil-éter halogenado isómero del enflurano ($\text{CF}_3\text{CHClOCHF}_2$) (Figura 8).

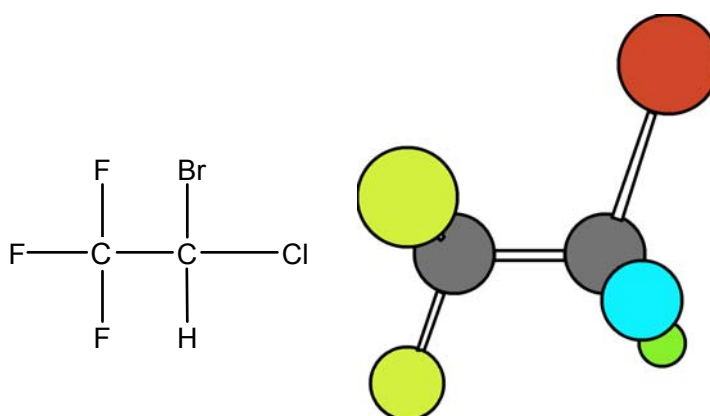


Figura 7. Fórmula química desarrollada (izquierda) y tridimensional (derecha) del halotano.

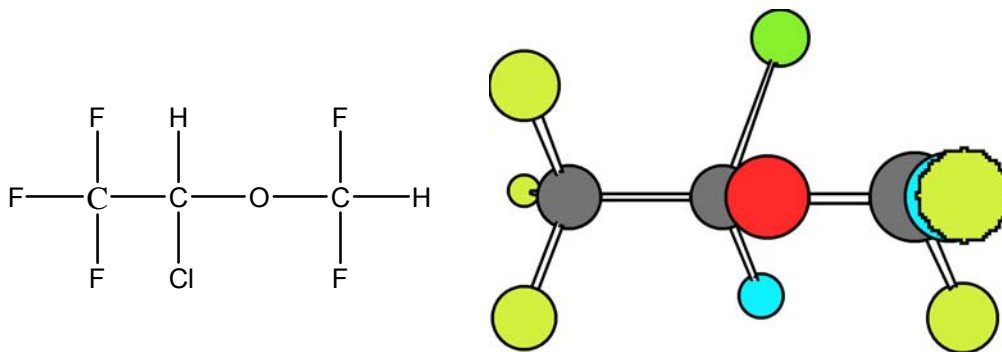


Figura 8. Fórmula química desarrollada (izquierda) y tridimensional (derecha) del isoflurano.

A temperatura ambiente (20°C y 24°C) las presiones de vapor de ambos agentes son muy similares (*Tabla 3*). Por ello, con un vaporizador específicamente diseñado para administrar alguno de estos anestésicos se obtienen unas concentraciones casi idénticas cuando es utilizado para vaporizar el otro agente (Steffey y col, 1983). Ambos compuestos son líquidos transparentes, no inflamables y no reaccionan con la cal sodada, el cobre o el cromo. El halotano, al contrario que el isoflurano, sí puede reaccionar con el aluminio, el latón y el plomo en presencia de agua, lo cual no limita su uso, pero requiere que los vaporizadores se fabriquen con otro tipo de materiales, como el acero inoxidable. El halotano es soluble en goma o caucho y, en cierta medida, también en polietileno, y es inestable en presencia de luz, mientras que el isoflurano no es soluble en estos compuestos y es estable a la luz. Además, el halotano es menos resistente a la descomposición que el isoflurano, por lo que para hacerlo más estable se añade timol (0,01%) como conservante (Terrell, 1984), el cual se acumula en los vaporizadores, disminuyendo su rendimiento con el tiempo (Rosenberg y Alila, 1984).

El olor del halotano es dulce, similar al del cloroformo, no es irritante de las vías aéreas y es bien tolerado por los pacientes, lo que permite un rápido aumento de la concentración inspiratoria del mismo durante la fase de inducción anestésica. El isoflurano, por el contrario, tiene un olor similar al éter y es irritante de las vías respiratorias, por lo que la concentración inspiratoria debe incrementar gradualmente. Por ello, aunque la solubilidad del isoflurano en sangre es menor que la del halotano (*Tabla 3*), la velocidad de inducción anestésica es ligeramente más lenta con el primero (Eger, 1984).

Concentración alveolar mínima

La potencia anestésica del halotano es mayor que la del isoflurano y, por tanto, posee una CAM menor en todas las especies animales (*Tabla 6*). La CAM de estos agentes, al igual que la de otros anestésicos inhalatorios, no se modifica con la duración de la anestesia, ni con los cambios de presión arterial, ni de PaO₂ (en un rango de 40 a 500 mmHg) o de PaCO₂ (en un rango de 15 a 95 mmHg) (Eger y col, 1965). Sin embargo, sí se afecta por factores como la edad, la gestación y la temperatura corporal, de tal manera que la CAM de estos dos agentes disminuye con la edad avanzada, la gestación y la hipotermia (Regan y Eger, 1967; Strout y Nahrwold, 1981; Eger, 1984; Loss y col, 1989). En la tabla 4 se detallan algunos factores que pueden afectar a la CAM de estos anestésicos inhalatorios.

Cuando se administran de manera concomitante otros fármacos depresores del SNC durante la anestesia inhalatoria, la CAM suele disminuir en diferente proporción dependiendo del agente estudiado. Tal es el caso de las benzodiacepinas y los agentes agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 .

| <i>Agente</i> | <i>Especie</i> | | | | |
|-------------------|----------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|----------------|
| | Hombre | Rata | Perro | Gato | Caballo |
| Halotano | 0,73 0,74 0,77 | 0,81 1,03 1,13 1,17 1,23 | 0,86 0,87 0,89 0,92 0,93 | 0,82 0,99 1,14 1,19 | 0,88 |
| Isoflurano | 1,15 | 1,17 1,38 1,46 1,52 | 1,28 1,29 1,30 | 1,61 1,63 | 1,31 |

Tabla 6. Concentración alveolar mínima (CAM) (% Vol) de halotano y de isoflurano en diversas especies (Quasha y col, 1980; Steffey 1996; Steffey 2001).

Mecanismo de acción

El halotano y el isoflurano, al igual que el resto de los anestésicos inhalatorios, actúan sobre diversos receptores y canales iónicos para producir sus efectos farmacológicos, los cuales son compartidos por todos ellos y están detallados en la tabla 5. El efecto principal que determina la CAM de estos agentes es, como ya se indicó anteriormente, su capacidad de producir inmovilidad, el cual se debe a la depresión de

las motoneuronas a nivel de la médula espinal. Sin embargo, se ha comprobado que la localización exacta dónde actúan el halotano y el isoflurano en la médula espinal no es la misma. El halotano inhibe el movimiento en respuesta a un estímulo doloroso, al menos en parte, mediante la depresión de las motoneuronas localizadas en el asta dorsal de la médula espinal, mientras que el isoflurano suprime el movimiento voluntario ante un estímulo nociceptivo por su acción sobre las motoneuronas del asta ventral de la misma (Jinks y col, 2003).

Biotransformación

El halotano es eliminado por vía respiratoria en un 60-80% sin sufrir ningún proceso de biotransformación, el resto (20-40%) se elimina por otras vías, una parte del mismo sin experimentar ningún cambio y otra en forma de metabolitos derivados de su metabolismo (Rehder y col, 1967). Al principio de la fase de eliminación el halotano se elimina mayormente por vía pulmonar, pero a medida que disminuye su concentración alveolar, una mayor cantidad del mismo es metabolizada en el hígado (Cahalan y col, 1981). La biotransformación de este agente tiene lugar, principalmente, en el hígado por la acción tanto oxidante como reductora del sistema citocromo P-450 en el retículo endoplasmático de los hepatocitos (Uehleke y col, 1973). Se han estudiado ampliamente los metabolitos que se producen, siendo el ácido trifluoroacético el principal derivado del metabolismo oxidante del halotano en los animales y en el hombre (Van Dyke y Wood, 1975; Baden y Rice, 1994). Otros metabolitos que se obtienen, como resultado de la acción oxidante del citocromo P-450, son el cloro inorgánico (Cl^-) y el bromo (Br^-), sin embargo, se libera una cantidad muy pequeña de flúor (F^-), puesto que su unión al átomo de carbono de la molécula de halotano es muy fuerte (Rehder y col, 1967). El metabolismo reductor del halotano requiere la presencia de condiciones de anaerobiosis y da lugar a los metabolitos Br^- y F^- (Baden y Rice, 1994). Como consecuencia de este tipo de metabolismo se forman radicales libres en el hígado, los cuales pueden ser los causantes de la hepatotoxicidad derivada de la administración de halotano (Plummer y col, 1982). Se ha comprobado en animales de experimentación que compuestos como el fenobarbital y la isoniazida estimulan el metabolismo del halotano cuando son administrados previamente a éste (Mazze, 1984; Sttefey, 2001). También se ha visto que la administración de dosis bajas de halotano durante un tiempo prolongado puede dar lugar a un aumento de su propio metabolismo (Ross y Cardell, 1978).

El isoflurano, por el contrario, no sufre prácticamente ningún proceso de metabolización, ni en el hombre ni en los animales. La mayor parte de este agente es eliminado por vía respiratoria sin biotransformar. Tan solo el 0,2% de este agente es

metabolizado mediante un proceso oxidativo (Holaday y col, 1975), siendo el flúor inorgánico (F^-) el metabolito principal, aunque también se obtienen pequeñas cantidades de ácido trifluoroacético (Baden y Rice, 1994). Incluso después de periodos prolongados de anestesia con isoflurano, las concentraciones plasmáticas de F^- son muy pequeñas (Dobkin y col, 1973) y no se producen radicales libres derivados de su metabolismo (Plummer y col, 1982). El fenobarbital, la izonizida y el etanol aumentan el metabolismo del isoflurano por inducción enzimática en estudios *in vitro*, sin embargo, no se ha observado un aumento significativo de los niveles plasmáticos de F^- *in vivo* (Eger, 1984).

Se ha comprobado que el isoflurano inhibe el metabolismo oxidativo del halotano y que puede aumentar el metabolismo reductor del mismo cuando estos dos agentes inhalatorios son administrados al mismo tiempo (Eger, 1984).

Farmacodinamia

1. Acciones en el SNC

El halotano deprime el SNC de manera dosis-dependiente hasta que se produce un colapso cardio-respiratorio y la muerte (Steffey, 2001). En el caso del isoflurano se observa un silencio en la actividad eléctrica cortical a concentraciones de 2 veces la CAM (Eger, 1984). Ambos agentes aumentan el flujo sanguíneo cerebral durante la anestesia al producir vasodilatación a este nivel, lo cual hace que se incremente la presión intracraneal, siendo este efecto mucho más marcado en el caso del halotano (Drummond y col, 1986). La autorregulación del flujo sanguíneo cerebral es abolida por el halotano a concentraciones superiores a 1 CAM en cabras, permaneciendo intacta la respuesta vascular ante fluctuaciones en el contenido arterial de CO_2 y restaurándose, al menos parcialmente, a una concentración de 0,5 CAM (Miletich y col, 1976). Se ha comprobado que el isoflurano reduce en menor grado que el halotano esta autorregulación en gatos (Todd y Drummond, 1984). El consumo cerebral de oxígeno se reduce con ambos agentes de manera dosis-dependiente, siendo más acusada esta reducción con el isoflurano (Drummond y col, 1986). Por todo ello, el isoflurano constituye el agente de elección en neurocirugía.

2. Acciones cardiovasculares

Ambos agentes reducen el gasto cardiaco, el volumen de eyección sistólico y la presión arterial de forma dosis-dependiente (Steffey, 2001). El halotano disminuye el gasto cardíaco y la presión arterial como consecuencia, principalmente, de la depresión directa de la contractilidad miocárdica, mientras que el isoflurano lo hace debido a la reducción de la resistencia vascular sistémica, ya que deprime el miocardio en mucha menor medida (Dale y Brown, 1987). Por tanto, el margen de seguridad del isoflurano, en

cuanto a la depresión miocárdica, es mayor (70-90%) que el del halotano, lo cual ha sido comprobado en ratas (Eger, 1984). Los efectos cardiovasculares producidos por ambos agentes cambian con la duración de la anestesia, al menos en algunas especies, de tal manera que la presión arterial, el volumen de eyección sistólico y el gasto cardíaco aumentan a medida que aumenta la duración de la misma (Steffey, 2001).

La frecuencia cardíaca tiende a ser ligeramente superior a la basal, especialmente en el caso del isoflurano, aunque esto depende en gran medida de la especie estudiada y del grado de profundidad anestésica. En el caso del halotano pueden aparecer arritmias espontáneas cuando el plano anestésico es superficial, disminuyendo su incidencia a medida que aumenta la profundidad anestésica (Purchase, 1966). El isoflurano incrementa la frecuencia cardíaca en 5-7 latidos por minuto en el hombre, incluso a niveles profundos de anestesia, y puede producir taquicardia a cualquier edad, aunque es más probable que ocurra en pacientes jóvenes (Eger, 1984). Este efecto del isoflurano es negativo, puesto que aumenta el consumo de oxígeno miocárdico y disminuye el tiempo disponible para la propia perfusión miocárdica.

Ambos agentes ejercen una acción depresora dosis-dependiente sobre los barorreceptores, lo cual contribuye al efecto hipotensor del halotano y del isoflurano (Duke y col, 1977; Seagard y col, 1983).

El halotano predispone a la aparición de extrasístoles ventriculares prematuras en presencia de catecolaminas (Purchase, 1966; Weiskopf y col, 1989), lo cual puede constituir un problema muy importante en determinados pacientes. La incidencia de aparición de este efecto es mucho menor en el caso del isoflurano (Joas y Stevens, 1971).

3. Acciones respiratorias

El halotano y el isoflurano, al igual que el resto de anestésicos inhalatorios, deprimen la respiración de manera dependiente de la profundidad y del tiempo de duración de la anestesia. La magnitud de esta depresión, bajo condiciones similares, es similar entre ambos agentes o mayor en el caso del isoflurano (Pavlin y Su, 1994). El halotano reduce inicialmente el volumen minuto espirado como consecuencia de la disminución del volumen corriente y, a medida que aumenta la profundidad anestésica, la frecuencia respiratoria también disminuye. El isoflurano da lugar a una respiración caracterizada por volúmenes corrientes grandes y una baja frecuencia respiratoria cuando el grado de profundidad anestésica es superficial o intermedia (Steffey y col, 1977). La concentración alveolar de halotano que induce arresto respiratorio es de 2,9 CAM en perro (Regan y Eger, 1967) y de 2,6 CAM en caballo (Steffey y col, 1977). La

concentración alveolar que produce apnea es de 2,5 CAM en el perro (Steffey y Howland, 1977) y de 2,3 CAM en el caballo (Steffey y col, 1977).

Tanto el halotano como el isoflurano poseen propiedades broncodilatadoras similares al relajar la musculatura lisa de las vías aéreas, por lo que ambos se pueden utilizar en animales con asma, antecedente de broncoespasmo o enfermedad pulmonar obstructiva crónica (Klide y Aviado, 1967; Hirshman y col, 1982).

4. Otras acciones

La disminución del flujo sanguíneo arterial hepático, del flujo sanguíneo portal y del aporte de oxígeno al hígado son menos marcadas con el isoflurano que con el halotano, por lo que constituye el agente de elección en pacientes con riesgo de daño hepático (Hursh y col, 1987). Se ha descrito la aparición de daño hepático transitorio en animales con hipoxemia anestesiados con halotano, pero no con isoflurano (Whitehair y col, 1996).

El isoflurano es más potente que el halotano en cuanto a la capacidad de aumentar el efecto relajante muscular de los fármacos bloqueantes de la placa neuromuscular no despolarizantes (Eger, 1984).

El flujo sanguíneo muscular y cutáneo se mantienen mejor durante la anestesia con isoflurano al ser capaz de reducir el tono vascular en estos lechos vasculares (Eger, 1984).

Efectos adversos

La aparición de una disfunción hepática transitoria, que ocurre a veces después de una anestesia inhalatoria, está relacionada habitualmente con el halotano (Baden y Rice, 1994). En ocasiones se produce la llamada "hepatitis por halotano" en la que participan ciertos metabolitos derivados del metabolismo oxidante, los cuales originan una necrosis hepática en individuos inmunológicamente susceptibles, que puede acabar en fallo hepático fulminante (Vergani y col, 1980). Tanto el halotano como el isoflurano, aunque este último en menor grado, pueden dar lugar al síndrome de "hipertermia maligna", que se produce principalmente en cerdos y en humanos genéticamente susceptibles (Gronert y Antognini, 1994).

| Aumentan la CAM |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Hipertermia (hasta 42°C) • Hipernatremia • Fármacos que estimulan el SNC: <ul style="list-style-type: none"> Anfetaminas Efedrina Morfina (en caballo) Fisostigmina |
| No alteran la CAM |
| <ul style="list-style-type: none"> • Duración de la anestesia • Hiperkalemia, hipokalemia • Género • PaCO₂ (15 – 95 mmHg) • PaO₂ > 40 mmHg • Presión arterial > 50 mmHg • Acidosis o alcalosis metabólica • Atropina, glicopirrolato, escopolamina (periférica) |
| Disminuyen la CAM |
| <ul style="list-style-type: none"> • Hipotermia • Hiponatremia • Gestación • PaCO₂ > 95 mmHg • PaO₂ < 40 mmHg • Presión arterial < 50 mmHg • Edad avanzada • Fármacos que deprimen el SNC: <ul style="list-style-type: none"> - Otros agentes inhalatorios: <ul style="list-style-type: none"> N₂O - Anestésicos inyectables: <ul style="list-style-type: none"> Barbitúricos Ketamina Propofol - Medicación preanestésica: <ul style="list-style-type: none"> Agonistas adrenérgicos α_2 Opiáceos Benzodiacepinas Fenotiacinas - Otros: <ul style="list-style-type: none"> Adenosina Anticolinérgicos centrales Antagonistas de los receptores 5HT |

Tabla 4. Algunos factores que afectan a la concentración alveolar mínima (CAM) de los anestésicos inhalatorios (Quasha y col, 1980; Cullen, 1986; Steffey, 1996).

| Receptor | Razonamiento |
|--|---|
| <p><i>Relevantes:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Receptores glicinérgicos | <ul style="list-style-type: none"> - Están ampliamente distribuidos por la médula espinal y son los mediadores más importantes de la neurotransmisión inhibitoria en la misma. - Los anestésicos inhalatorios prolongan la duración de los potenciales miniatura post-sinápticos a concentraciones clínicas. - El efecto de los antagonistas de estos receptores sobre la CAM se correlaciona con los efectos observados in vitro. |
| <p><i>Posiblemente relevantes:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Receptores 5-HT_{2A} • Canales de sodio • Receptores NMDA | <ul style="list-style-type: none"> - El ketanserín, bloqueante específico de estos receptores, por vía intratecal disminuye la CAM en un 20-25%, pero no se ha visto efecto directo en estudios in vitro. - La lidocaína, inhibidora de los canales de sodio presinápticos, por vía sistémica disminuye la CAM en un 40-50%. - Los anestésicos inhalatorios pueden inhibir los canales de sodio a concentraciones clínicas, pero los compuestos inhalatorios no inmovilizantes no pueden. - El bloqueo de los canales de sodio puede disminuir la liberación de glutamato de las terminaciones nerviosas que contienen receptores NMDA. - In vitro, muchos anestésicos inhalatorios pueden bloquear los receptores NMDA a concentraciones clínicas. - El bloqueo de los receptores NMDA disminuye la CAM proporcionalmente a la concentración de bloqueante en la parte baja de la médula espinal. - La disminución de liberación de glutamato tras el bloqueo de los canales de sodio producido por los anestésicos inhalatorios disminuye la actividad de los receptores NMDA. - Se especula que la estimulación de los receptores glicinérgicos en las terminaciones nerviosas que contienen receptores NMDA puede incrementar la liberación de glutamato y disminuir la actividad de los receptores NMDA. |
| <p><i>Probablemente irrelevantes:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Canales de potasio • Receptores AMPA y kainato | <ul style="list-style-type: none"> - Un estudio en ratones modificados genéticamente no dio lugar a cambios de la CAM. - El riluzol, un activador no específico de los canales de potasio, en infusión por vía intratecal o intravenosa a concentraciones no tóxicas no disminuye la CAM. - Aunque el bloqueo de los receptores AMPA y kainato disminuye la CAM y los anestésicos inhalatorios inhiben ligeramente los potenciales excitatorios post-sinápticos mediados por estos receptores, en ratones modificados genéticamente con ausencia de subunidades conformadoras de estos receptores tienen valores normales de la CAM. |

| | |
|---|---|
| <p><i>Muy probablemente irrelevantes:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Receptores GABA_A • Receptores opiáceos • Receptores adrenérgicos α_2 • Receptores 5-HT₃ • Receptores colinérgicos | <ul style="list-style-type: none"> - Los aumentos de la CAM derivados de la administración intratecal de antagonistas de estos receptores no se correlacionan con el efecto in vitro. - Las correlaciones entre los efectos sobre la CAM y los efectos in vitro son inconsistentes. - La administración intravenosa de antagonistas de los receptores GABA_A aumenta la CAM tanto como la DE₅₀ de ketamina. - La naloxona, un antagonista puro de estos receptores, no varía la CAM - La administración sistémica y/o intratecal de bloqueantes de estos receptores no dio lugar a aumentos de la CAM. - La ondansetrona, un bloqueante de estos receptores, no afecta la CAM. - Algunos efectos anestésicos in vitro sobre los receptores 5-HT₃ son excitatorios. - Bloqueantes de los receptores nicotínicos y muscarínicos no alteran la CAM. - Un compuesto inhalatorio no inmovilizante inhibe los receptores colinérgicos nicotínicos. |
|---|---|

Tabla 5. Relevancia de los diferentes receptores específicos y canales iónicos como mediadores directos de la CAM (Sonner y col, 2003).

1.4. INTERACCIÓN ENTRE AGENTES ANESTÉSICOS

Cuando dos o más fármacos son administrados conjuntamente se puede producir una interacción entre ellos, de tal manera que el efecto producido por ambos puede ser igual, mayor o menor que la suma de los efectos ejercidos por ambos agentes por separado. Existen varios tipos de interacciones farmacológicas, que pueden ser de tipo farmacocinético, cuando se alteran los parámetros farmacocinéticos de uno o de los dos agentes (aclaramiento plasmático, volumen de distribución, vida media, unión a proteínas plasmáticas, etc.), o de tipo farmacodinámico, cuando la interacción afecta únicamente al efecto o efectos ejercidos por los fármacos, bien a nivel del receptor (competición, desplazamiento, etc..) o bien porque poseen diferentes mecanismos de acción (Klaassen, 2001).

Los distintos tipos de interacción farmacológica son:

- *Adición*: cuando el efecto combinado de 2 fármacos es igual a la suma del efecto de cada uno de ellos cuando es administrado por separado.
- *Sinergismo*: cuando el efecto combinado de 2 fármacos es mayor que la suma de los efectos de cada uno por separado.
- *Potenciación*: cuando un determinado efecto de un fármaco se incrementa al administrar otro que no posee dicho efecto.
- *Antagonismo*: cuando el efecto combinado de 2 fármacos es menor que la suma de los efectos de cada uno por separado, o bien, cuando el efecto de uno de ellos es neutralizado por la administración del otro.

Desde un punto de vista anestésico nos interesan el sinergismo y la adición entre fármacos con el objetivo principal de obtener el efecto o los efectos deseados, pero disminuyendo las dosis administradas de cada uno de los agentes anestésicos y así poder evitar al máximo la aparición de los efectos adversos no deseados. A este nuevo concepto de modalidad anestésica se le denomina “*anestesia equilibrada*”.

Una de las características más importantes de los fármacos agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 es su capacidad para reducir los requerimientos de otros agentes anestésicos. En el caso particular de la dexmedetomidina, se ha comprobado que es capaz de disminuir la dosis necesaria para inducir una pérdida de consciencia de diversos agentes anestésicos intravenosos, como el propofol (Peden y col, 2001) o los barbitúricos (Scheinin y col, 1992). Esta interacción probablemente sea de tipo farmacocinético como consecuencia del efecto reductor del gasto cardíaco ejercido por

los agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 , lo que altera los volúmenes de distribución de los otros fármacos (Buhrer y col, 1994).

La dexmedetomidina también reduce los requerimientos de los anestésicos inhalatorios, lo que se manifiesta mediante la reducción de la CAM. Esta reducción ocurre, entre otros agentes inhalatorios, en el caso del halotano (Segal y col, 1989) y del isoflurano (Savola y col, 1991a; Aantaa y col, 1997). La dexmedetomidina reduce la CAM de halotano en ratas de forma dosis-dependiente, de tal manera que cuando se administra una dosis de 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ por vía intraperitoneal, el vaporizador puede ser cerrado durante 30 minutos sin que los animales muestren un movimiento voluntario ante la aplicación de un estímulo doloroso supramáximo (Segal y col, 1989). En la especie humana, la dexmedetomidina es capaz de reducir la CAM de isoflurano en pacientes sanos de manera dosis-dependiente (desde una CAM basal de 1,05% hasta una CAM de 0,72% a concentraciones plasmáticas bajas y de 0,52% a concentraciones plasmáticas altas de dexmedetomidina) (Khan y col, 1999).

La dexmedetomidina, además, presenta un sinergismo con los fármacos opiáceos agonistas puros, como el fentanilo, la meperidina o la morfina, independientemente de la vía de administración utilizada, en términos de una mayor duración de los efectos analgésicos de los opiáceos a una dosis determinada y de disminución de la dosis necesaria para obtener un mismo efecto analgésico (Meert y De Kock, 1994). Se ha comprobado que este sinergismo es de tipo farmacodinámico, siendo los receptores adrenérgicos $\alpha_2\text{C}$ de la médula espinal los posibles responsables del mismo (Fairbanks y col, 2002).

Cuando la dexmedetomidina es administrada junto con la ketamina existe una potenciación de la capacidad antinociceptiva y una reducción de los requerimientos intraoperatorios de esta última, además, es capaz de disminuir los efectos cardioestimulantes y los efectos adversos en el SNC inducidos por la ketamina (Levanen y col, 1995).

Las benzodiazepinas también interactúan con otros fármacos anestésicos de manera sinérgica y/o aditiva. El midazolam reduce los requerimientos de otros agentes anestésicos intravenosos, como el tiopental (Wilder-Smith y col, 1999) y el propofol (Short y Chui, 1991), en términos de inmovilidad, hipnosis y capacidad analgésica. Además, utilizados en combinación para la inducción anestésica, el midazolam y el tiopental reducen la respuesta autonómica de tipo hemodinámico y cardiaco (frecuencia cardiaca, presión arterial y concentración plasmática de adrenalina y noradrenalina) frente a la intubación endotraqueal (Nishiyama y col, 2002).

El midazolam cuando es administrado por vía intravenosa en humanos potencia la capacidad del halotano de producir inmovilidad de forma exponencial, es decir, a medida que aumenta la dosis del primero se reduce más la CAM del segundo (desde una CAM basal de 0,78% hasta una CAM, con midazolam a concentraciones plasmáticas incrementales, de 0,47%, 0,38% y 0,23% respectivamente), lo que ocurre hasta un determinado nivel a partir del cual ya no existe una mayor reducción puesto que esta potenciación es saturable (Inagaki y col, 1993). En ratas se comprobó que el midazolam, a dosis de 1 mg/kg por vía intraarterial, disminuye la CAM de halotano en un 37% (Greiner y Larach, 1989) y por vía intratecal reduce la CAM de isoflurano hasta en un 53% (Schwieger y col, 1994).

Se ha descrito un sinergismo, de tipo farmacodinámico, entre el midazolam y diversos fármacos agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 , entre los que se encuentra la dexmedetomidina, en cuanto al efecto sedante producido por ambos, permitiendo la utilización de dosis inferiores a las necesarias para conseguir el mismo grado de hipnosis y de efecto ansiolítico que se obtendría con cada fármaco por separado (Salonen y col, 1992).

También hay estudios de interacción entre el midazolam y los agentes opiáceos agonistas puros. En relación al efecto hipnótico, se ha visto un sinergismo entre el midazolam y el alfentanilo para inducir la anestesia (Vinik y col, 1989). Cuando se administra por vía intratecal, el midazolam potencia el efecto analgésico de la morfina, mientras que por vía intracerebroventricular reduce su capacidad antinociceptiva, es decir, el midazolam produce una potenciación a nivel espinal y un antagonismo a nivel supraespinal del efecto analgésico de la morfina (Luger y col, 1995). En cuanto al desarrollo de tolerancia frente al efecto analgésico y de dependencia a los opiáceos, por la administración crónica de los mismos, el midazolam es capaz de inhibir o paliar ambas respuestas (Tejwani y col 1993).

Los agentes inhalatorios pueden alterar diversos parámetros farmacocinéticos de otros fármacos anestésicos cuando son administrados conjuntamente. Estudios *in vitro* e *in vivo* realizados en animales sugieren que el halotano inhibe la capacidad del hígado para metabolizar otros fármacos, lo cual, junto con la disminución del flujo sanguíneo hepático en los animales anestesiados, da lugar a una mayor concentración plasmática de los mismos (Aune y col, 1983; Reilly y col. en 1985). Además, se ha observado que el halotano es capaz de alterar la distribución y/o la unión de la ketamina (White y col, 1976), del diazepam, del midazolam (Suárez y col, 1991) y del tiopental (Buch y col, 1991) a las proteínas plasmáticas, lo que da lugar a una mayor duración de sus efectos.

El halotano, el isoflurano y el metabolito derivado del metabolismo hepático del halotano, el ácido trifluoroacético, también pueden alterar la biodisponibilidad de algunos fármacos, como el diazepam, al desplazarlo de su unión a las proteínas plasmáticas *in vitro* y, por tanto, aumentando la fracción libre del mismo (Dale y Nilsen, 1984; Dale y Jenssen, 1986).

Cuando se administran conjuntamente 2 fármacos con capacidad, cada uno de ellos por separado, de reducir la CAM de halotano o de isoflurano, la interacción que se produce entre ambos puede dar lugar a una reducción de la CAM mayor a la obtenida con cada uno individualmente, es decir, puede ocurrir un sinergismo en el efecto de reducción de la CAM. Tal es el caso de la administración conjunta de un fármaco opiáceo y una benzodiacepina, como el fentanilo y el diazepam, que reducen la CAM de isoflurano en un 74%, frente al 54% de reducción obtenida solo con fentanilo, en perros (Hellyer y col, 2001); o el caso de un opiáceo con un antiinflamatorio no esteroideo, como la morfina y la aspirina, que reducen la CAM de isoflurano en ratas, cuando se administran al mismo tiempo, desde un valor CAM de 1,17% con morfina hasta un 0,9% con ambos fármacos conjuntamente (Gómez de Segura y col, 1998). Sin embargo, no existe sinergismo entre la morfina y un agente antiinflamatorio no esteroideo selectivo de la COX-2, como es el meloxicam (Santos y col, 2004). En el caso particular de la dexmedetomidina y el midazolam, no se ha estudiado la interacción que existe entre ellos para el efecto de reducción de la CAM de los anestésicos inhalatorios.

También puede existir una interacción entre dos anestésicos inhalatorios. Un estudio realizado recientemente en ratas demuestra que existe un efecto aditivo entre el halotano y el isoflurano (Eger y col, 2003) cuando se vaporizan al mismo tiempo.

2. JUSTIFICACIÓN

La tendencia actual en la práctica anestésica, tanto en el campo de la medicina humana como veterinaria, consiste en la utilización de protocolos cada vez más seguros y eficaces que cubran todas las acciones farmacológicas requeridas para producir una anestesia general. Para ello se tienen que combinar diversos fármacos, puesto que en la actualidad aun no existe un agente que posea una capacidad hipnótica, analgésica y relajante muscular, sin producir, al mismo tiempo, una excesiva depresión de los sistemas cardiovascular y respiratorio.

De entre las combinaciones anestésicas habitualmente más utilizadas se encuentra la utilización de un agente tranquilizante o ansiolítico junto con otro que posea capacidad analgésica, ambos en combinación con un fármaco que produzca hipnosis y relajación muscular. Estas combinaciones de diversos agentes anestésicos reducen los riesgos asociados a una excesiva depresión cardiovascular y respiratoria del paciente, puesto que permiten disminuir las dosis requeridas de cada agente para conseguir el mismo efecto.

Para la realización del presente trabajo se planteó la utilización de un agente agonista de los receptores adrenérgicos α_2 , por su capacidad analgésica y sedante, en combinación con una benzodiazepina, por su capacidad sedante y ansiolítica, administrados en ratas Wistar anestesiadas con un agente inhalatorio con el objetivo de estudiar la posible interacción farmacológica que tiene lugar entre estos dos fármacos para el efecto reductor de la CAM.

El agente agonista de los receptores adrenérgicos α_2 elegido fue la dexmedetomidina, y la benzodiazepina seleccionada fue el midazolam. Estos dos fármacos fueron seleccionados en base a la revisión bibliográfica realizada al ser dos agentes muy utilizados tanto en anestesiología humana como veterinaria y no haber encontrado bibliografía referente a la interacción que existe entre ambos para el efecto de

reducción de la CAM. Dado que el halotano y el isoflurano son los dos anestésicos inhalatorios que han sido estudiados en mayor profundidad y los más utilizados en anestesiología veterinaria, fueron estos agentes los que se eligieron para la realización del presente estudio.

A partir de la posible interacción farmacológica ocurrida entre estos tres tipos de agentes, la dexmedetomidina, el midazolam y el halotano o el isoflurano, podría establecerse un protocolo anestésico mas seguro y eficaz, que son los principales objetivos perseguidos en el campo de la anestesiología clínica.

3. *OBJETIVOS*

Para la realización del presente trabajo se plantearon una serie de objetivos:

1. Determinar los efectos que tiene la administración de una infusión intravenosa continua de 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ de dexmedetomidina con o sin un bolo intravenoso de 0,1 mg/kg de midazolam sobre las concentraciones alveolares mínimas de halotano y de isoflurano en ratas Wistar.

2. Describir el tipo de interacción farmacológica existente entre la dexmedetomidina y el midazolam para el efecto de reducción de las concentraciones alveolares mínimas de halotano y de isoflurano en ratas Wistar.

3. Determinar los efectos cardiovasculares y respiratorios que tienen lugar cuando se administra una infusión intravenosa continua de 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ de dexmedetomidina con o sin un bolo intravenoso de 0,1 mg/kg de midazolam en ratas Wistar anestesiadas con halotano o con isoflurano a una concentración de una vez la concentración alveolar mínima.

4. MATERIAL Y MÉTODO

4.1. MATERIAL

Animales

El presente trabajo fue realizado en el servicio de Cirugía Experimental del Hospital Universitario Clínica Puerta de Hierro tras obtenerse la aprobación por parte del comité de ética del propio hospital. Para llevar a cabo este estudio se utilizaron un total de 59 ratas Wistar hembras (Harlan Interfauna Ibérica S.L., Barcelona), con una edad de 90 ± 15 días (rango 75 - 105 días) y un peso de 215 ± 35 gramos (rango 180 - 250 gramos). Los estudios se realizaron siempre por la mañana, en horario de 9:00 a 12:00 horas, para evitar la posible influencia del ciclo circadiano en los resultados del trabajo. Todos los animales estaban sanos y no recibieron ningún tratamiento previo. Desde su nacimiento hasta el momento del estudio, las ratas se mantuvieron con comida y agua *ad-libitum*, con un ciclo 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, una temperatura ambiente de $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa del aire del 50% - 70%. Los animales se mantuvieron en estas condiciones ambientales durante al menos 1 semana, para permitir su aclimatación, antes de la realización de los experimentos. En todo momento se siguieron las normas establecidas por la "Guía para el cuidado y uso de los animales de laboratorio", publicada por el Instituto de la Salud, para la manipulación de las ratas.

Material y equipamiento

La siguiente lista enumera por orden alfabético los materiales utilizados durante el estudio:

- Agujas hipodérmicas de 0,50 x 16 mm y 25G (Sterican®), B/BRAUN Melsungen AG, Alemania.
- Analizador de gases y de pH (1306 pH/Blood Gas Analyzer), Instrumentation Laboratory, Barcelona, España.
- Bomba de infusión (Perfusor® compact), B/BRAUN Melsungen AG, Alemania.
- Catéteres de teflón para venopunción de 16G x 51 mm (2") y 24G x 19mm (3/4") (Abbocath®-T), Abbott Laboratories, Irlanda.
- Clorhidrato de dexmedetomidina 100 µg/ml (Precedex®), Abbott Laboratories, E.E.U.U.
- Esparadrapo (Omniplast®), Laboratorios Unitex-Hartmann S.A., Mataró, España.
- Gasas
- Guía de teflón recta de 0.89 mm de diámetro y 45 cm de longitud, Intermédica, Madrid, España.
- Halotano (D.C.I.), frasco de 250 ml (Fluothane®), AstraZeneca Farmacéutica S.A., España.
- Hoja de bisturí nº 23 (Swann-Morton B.S. 2982), Swann & Co LTD, Sheffield, Inglaterra.
- Isoflurano (D.C.I.), frasco de 250 ml (Forane®), Abbott Laboratories Ltd., Queenborough, Kent, Inglaterra.
- Jeringas de 1 ml, 5 ml y 20 ml (B/BRAUN Injekt), B/BRAUN Melsungen AG, Alemania.
- Llave de tres vías (BD Connecta Plus 3), Becton Dickinson, Helsingborg, Suecia.
- Midazolam (D.C.I.) 1mg/ml, Laboratorios Farmacéuticos Rovi, S.A., Madrid, España.
- Monitor de anestesia (PM 8060 vitara), Dräger Medizintechnik GMBH, Alemania.
- Otoscopio halógeno de cono largo, Gowllands, Reino Unido.
- Pinza de disección de punta fina sin dientes 11 cm de acero inoxidable, Aesculap, Alemania.
- Pinza de disección delicada Iris estriada muy fina recta 11 cm de acero inoxidable, Aesculap, Alemania.

- Pinza de disección estándar sin dientes 11,5 cm de acero inoxidable, Aesculap, Alemania.
- Pinza hemostática Rochester-Pean recta sin dientes 16 cm de acero inoxidable, Aesculap, Alemania.
- Prolongador de línea arterial (Pórtex®), Smiths industries, Kent, Inglaterra.
- Solución de cloruro potásico intravenoso, UCB Pharma, S.A., Molins de Rei, Barcelona, España.
- Solución salina fisiológica de 200 ml, B/BRAUN medical, S.A., Barcelona, España.
- Sonda de temperatura rectal flexible de 3,3 mm de diámetro (YSI 402 AC), Dräger Medizintechnik GMBH, Alemania.
- Sutura de seda trenzada 0 USP con aguja recta, Laboratorios Aragón S.A., Barcelona, España.
- Tapón a rosca (1 IN-Stopper), B/BRAUN Melsungen AG, Alemania.
- Tijera de cirugía estándar A/R 14 cm de acero inoxidable, Aesculap, Alemania.
- Tijera de disección Metzenbaum curva 15 cm de acero inoxidable, Aesculap, Alemania.
- Transductor de presión (Transtar (TM) DPT) con 2 vías, Medex Medical INC., Haslingden, Gran Bretaña.
- Unidad de calentamiento (Bair Hugger® modelo 505), Augustine Medical, Inc. Minnesota, E.E.U.U.
- Unidad de trabajo (Julian®), Dräger Medizintechnik GMBH, Alemania.
- Vaporizador de halotano (Vapor 19.3 Halothane), Dräger Medizintechnik GMBH, Alemania.
- Vaporizador de isoflurano (Vapor 19.3 Isoflurane), Dräger Medizintechnik GMBH, Alemania.

4.2. MÉTODO

Anestesia

Para anestésiar a los animales se utilizó una campana de inducción, donde se introducía a la rata y se conectaba un flujo de 4 litros/min de oxígeno al 100%, en el que era vaporizado el anestésico inhalatorio, halotano o isoflurano, a una concentración del 4% ó del 5% respectivamente. Cuando el animal perdía el reflejo palpebral y el tono mandibular, se procedía a la intubación endotraqueal con un catéter de teflón de 16G según la técnica descrita por Weksler y col (1994). Con este

propósito el animal era colocado en decúbito supino y se le abría la boca para poder visualizar la laringe mediante la utilización de un otoscopio de cono largo. A continuación, se introducía una guía de teflón de punta roma en el interior de la laringe y a través de la misma era insertado el catéter en la traquea, con la punta localizada a una distancia de 3-5 mm cranealmente a la carina. Una vez asegurado el tubo endotraqueal al maxilar superior con esparadrapo, éste era conectado a un circuito anestésico consistente en una T-Ayre modificada para obtener un espacio muerto reducido (0,2 ml). El O₂ era regulado a un flujo de 1 litro/min y la concentración de inspirada de anestésico inhalatorio se ajustaba a 1,9-2,1% en el caso del halotano, y a 2,1-2,3% en el caso del isoflurano, durante todo el proceso de preparación del animal. Durante todo el estudio los animales ventilaban de manera espontánea.

Preparación y monitorización de los animales

Una vez anestesiados los animales, se realizaba una incisión longitudinal, de aproximadamente 2 cm de longitud, con una hoja de bisturí en la parte ventral del cuello y se disecaba la arteria carótida izquierda. Esta arteria era cateterizada con un catéter de teflón de 24G con el objetivo de monitorizar la frecuencia cardiaca, la presión arterial sistólica (PAS) y la presión arterial diastólica (PAD) de manera invasiva y continua. Una vez que había sido colocado el catéter intra-arterial correctamente, se aseguraba con una sutura de seda a la piel y se conectaba, mediante un prolongador de línea arterial, a la cabeza de presión. El cálculo de la presión arterial media (PAM) se realizó mediante la aplicación de la siguiente fórmula:

$$PAM = PAD + 1/3 (PAS - PAD)$$

Mediante la utilización de un catéter de teflón de 24G se cateterizaba una vena caudal con la finalidad de tener acceso a una vía venosa para la administración de los fármacos objeto de estudio. A continuación, se colocaba una sonda de temperatura rectal para controlar la temperatura corporal de manera continua. Se utilizó un sistema de calentamiento con aire seco caliente a 45°C para mantener la temperatura dentro de los límites fisiológicos considerados normales en esta especie (37-38°C).

También se monitorizaron de forma continua la frecuencia respiratoria, la presión parcial de CO₂ tele-espiratorio y las fracciones inspiratoria y espiratoria de anestésico inhalatorio. Para medir estos parámetros se aspiraba gas alveolar tele-espiratorio por medio de un catéter de teflón de 16G de diámetro externo colocado en el interior del tubo endotraqueal, con la punta localizada cranealmente a la carina, y se analizaba mediante espectometría por infrarrojos. El volumen por minuto de gas tele-espiratorio aspirado fue de 60 ml/min.

Al final de cada estudio se extrajo un volumen de 0,5 ml de sangre de la arteria carótida a todos los animales antes de ser sacrificados, con la finalidad de realizar un análisis gasométrico de la sangre arterial. Los parámetros medidos fueron el pH, la presión parcial en sangre arterial de O₂ (PaO₂) y la presión parcial en sangre arterial de CO₂ (PaCO₂), con el objetivo de comprobar que se encontraban dentro de los límites fisiológicos. Los límites considerados normales fueron:

| | |
|-------------------|--------------|
| pH | 7,30 - 7,40 |
| PaO ₂ | > 90 mmHg |
| PaCO ₂ | 40 - 45 mmHg |

Una vez terminada la preparación de los animales y realizada la monitorización de los parámetros indicados anteriormente, la concentración inspirada de anestésico inhalatorio era reducida hasta un valor de 1,3% en el caso del halotano y de 1,5% en el caso del isoflurano, que son unos valores cercanos a la CAM de estos agentes inhalatorios descritos por otros autores para la rata (Steffey 1996).

Al final de cada experimento el animal que había sido utilizado era sacrificado mediante la administración de una sobredosis de cloruro potásico por vía intravenosa (50 mEq/kg). Previamente a la administración del cloruro potásico se profundizaba el plano anestésico aumentando la concentración inspirada de anestésico inhalatorio hasta un 4% en el caso del halotano o un 5% en el caso del isoflurano, para que el animal no fuera consciente.

Grupos de animales

Los animales fueron distribuidos de manera aleatoria en 8 grupos, constituidos por 7 a 8 animales cada uno (número de animales por grupo = N). El estudio fue ciego, de tal manera que el investigador encargado de determinar la CAM de cada anestésico desconocía el grupo de pertenencia del animal. Los 8 grupos de animales fueron los que detallan a continuación:

1. Grupo control de halotano (SAL+HAL) (N = 7)

A las ratas pertenecientes a este grupo se les administró una infusión intravenosa continua de un volumen de solución salina fisiológica (SAL) correspondiente a una dosis de 0,25 µg/kg/min de clorhidrato de dexmedetomidina. 15 minutos después de haber sido iniciada la infusión se inyectó por vía intravenosa un bolo de 0,5 ml de SAL. A los 30 minutos del inicio de la infusión se comenzó a determinar la CAM de halotano.

2. *Grupo dexmedetomidina con halotano (DEX+SAL+HAL) (N = 7)*

A las ratas pertenecientes a este grupo se les administró una infusión intravenosa continua de 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ de clorhidrato de dexmedetomidina. 15 minutos después de haber sido iniciada la infusión se inyectó por vía intravenosa un bolo de 0,5 ml de SAL. A los 30 minutos del inicio de la infusión se comenzó a determinar la CAM de halotano.

3. *Grupo midazolam con halotano (SAL+MID+HAL) (N = 7)*

A las ratas pertenecientes a este grupo se les administró una infusión intravenosa continua de un volumen de SAL correspondiente a una dosis de 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ de clorhidrato de dexmedetomidina. 15 minutos después de haber sido iniciada la infusión se inyectó por vía intravenosa una dosis de 1 mg/kg de midazolam diluido en SAL hasta un volumen total de 0,5 ml en forma de bolo. A los 30 minutos del inicio de la infusión se comenzó a determinar la CAM de halotano.

4. *Grupo dexmedetomidina + midazolam con halotano (DEX+MID+HAL) (N = 7)*

A las ratas pertenecientes a este grupo se les administró una infusión intravenosa continua de 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ de clorhidrato de dexmedetomidina. 15 minutos después del inicio de la infusión se inyectó por vía intravenosa una dosis de 1 mg/kg de midazolam diluido en SAL hasta un volumen total de 0,5 ml en forma de bolo. A los 30 minutos del inicio de la infusión se comenzó a determinar la CAM de halotano.

5. *Grupo control de isoflurano (SAL+ISO) (N = 8)*

A las ratas pertenecientes a este grupo se les administró una infusión intravenosa continua de un volumen de SAL correspondiente a una dosis de 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ de clorhidrato de dexmedetomidina. 15 minutos después de haber sido iniciada la infusión se inyectó por vía intravenosa un bolo de 0,5 ml de SAL. A los 30 minutos del inicio de la infusión se comenzó a determinar la CAM de isoflurano.

6. *Grupo dexmedetomidina con isoflurano (DEX+SAL+ISO) (N = 8)*

A las ratas pertenecientes a este grupo se les administró una infusión intravenosa continua de 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ de clorhidrato de dexmedetomidina. 15 minutos después de haber sido iniciada la infusión se inyectó por vía intravenosa un bolo de 0,5 ml de SAL. A los 30 minutos del inicio de la infusión se comenzó a determinar la CAM de isoflurano.

7. *Grupo midazolam con isoflurano (SAL+MID+ISO) (N = 8)*

A las ratas pertenecientes a este grupo se les administró una infusión intravenosa continua de un volumen de SAL correspondiente a una dosis de 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ de clorhidrato de dexmedetomidina. 15 minutos después de haber sido iniciada la infusión se inyectó por vía intravenosa una dosis de 1 mg/kg de midazolam diluido en SAL hasta un volumen total de 0,5 ml en forma de bolo. A partir de los 30 minutos de infusión se comenzó a determinar la CAM de isoflurano.

8. *Grupo dexmedetomidina + midazolam con isoflurano (DEX+MID+ISO) (N = 7)*

A las ratas pertenecientes a este grupo se les administró una infusión intravenosa continua de 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ de clorhidrato de dexmedetomidina. 15 minutos después de haber sido iniciada la infusión se inyectó por vía intravenosa una dosis de 1 mg/kg de midazolam diluido en SAL hasta un volumen total de 0,5 ml en forma de bolo. A los 30 minutos desde el inicio de la infusión se comenzó a determinar la CAM de isoflurano.

Determinación de la concentración alveolar mínima (CAM)

Para la determinación de la CAM se utilizó el método descrito por Quasha y col (1980) y se hizo por duplicado en cada animal. La concentración tele-espiratoria de anestésico inhalatorio se mantenía constante durante un periodo de 15 minutos con la finalidad de conseguir el equilibrio entre la concentración de anestésico presente en los alveolos (tele-espiratoria), en la sangre arterial y en el SNC. Posteriormente, se procedía a aplicar el estímulo doloroso supramáximo mediante la utilización de una pinza hemostática Rochester-Pean recta sin dientes de 16 cm de longitud, la cual se colocaba cerca de la base de la cola de la rata, perpendicularmente a la misma y ocupando la totalidad de su anchura, y se cerraba hasta el primer nivel de forma mantenida durante 1 minuto. Si no se obtenía una respuesta motora positiva por parte del animal, la concentración alveolar de anestésico era reducida en un 0,1%-0,2%, y el estímulo doloroso era aplicado de nuevo después de un periodo de espera de 15 minutos, en un lugar próximo, pero diferente al anterior. Si por el contrario el animal presentaba una respuesta motora positiva, la concentración alveolar de anestésico inhalatorio se incrementaba en un 0,1%-0,2% con respecto a la anterior, y la aplicación del estímulo doloroso se repetía a los 15 minutos. La CAM se consideró que era la concentración tele-espiratoria de anestésico inhalatorio situada a medio camino entre la concentración más alta a la que se obtuvo una respuesta negativa y la concentración más baja a la que se obtuvo una respuesta positiva.

La consideración de una respuesta como positiva o negativa se realizó en función de lo descrito por Quasha y col (1980). Una respuesta positiva se consideró cuando el animal presentaba un movimiento muscular voluntario y brusco, normalmente de la cabeza, el torso o las extremidades. No se consideraron como respuestas positivas un tic nervioso o una mueca, sino tan solo una sacudida o una torsión del cuerpo o de la cabeza. Tampoco se consideraron la tos, el masticar o el tragar como respuestas positivas. Los movimientos de las extremidades eran los que se presentaban con una mayor frecuencia.

Corrección de la CAM a la presión barométrica al nivel del mar

El valor de CAM obtenido en cada animal fue corregido a la presión barométrica al nivel del mar de 1 atmósfera, o lo que es lo mismo, a una presión atmosférica de 760 mmHg. La corrección se realizó aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{CAM}_{\text{corregida}} = \text{CAM}_{\text{obtenida}} \times \text{Presión barométrica ambiental (mmHg)} / 760 \text{ mmHg}$$

(Dorsch y Dorsch, 1994).

Estudio estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el programa informático JMP 5.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, U.S.A.). Todos los valores de los parámetros medidos durante el estudio fueron agrupados y analizados por medio de un análisis de varianza (ANOVA) de una vía con un intervalo de confianza del 99%.

Una vez obtenidos estos resultados, se realizó un análisis estadístico de Tukey-Kramer para comparaciones múltiples fijando un valor de $p < 0,01$. En este análisis se compararon dos a dos los valores medios \pm DT de todos los parámetros estudiados. Se consideró que existían diferencias estadísticamente significativas para un valor de $p < 0,01$.

En base a estudios previos realizados (Santos y col, 2004), en los que se utilizaron una metodología y un análisis estadístico similares, se determinó que el número adecuado de animales por grupo para obtener más de un 90% de poder para detectar una diferencia absoluta de las medias de 0,15% - 0,30% era de 7. Sin embargo, en previsión de que alguno de los animales de algún grupo no pudiera ser incluido en el análisis se partió de un número de 8 animales por grupo.

Cuantificación de la interacción farmacológica

La cuantificación de la interacción farmacológica existente entre la dexmedetomidina y el midazolam se realizó partiendo del modelo de adición propuesto por Ko y col (2000), el cual consiste en asumir que el efecto final de dos fármacos

administrados conjuntamente es igual a la suma de los efectos de ambos agentes por separado. Por tanto, aplicándolo a nuestro estudio, la interacción entre la dexmedetomidina y el midazolam es aditiva si el porcentaje de reducción de la CAM de halotano o de isoflurano cuando se combinan estos fármacos es igual a la suma de los porcentajes de reducción obtenidos cuando se administra cada agente por separado. Partiendo de este modelo de adición, si la combinación de la dexmedetomidina con el midazolam daba lugar a una mayor reducción de la CAM de la que se esperaría obtener si la interacción fuera aditiva, el efecto combinado era descrito como sinérgico. Mientras que si la combinación de estos dos fármacos daba lugar a una menor reducción de la CAM de la esperada por una simple adición, el efecto combinado era descrito como antagonista.

Figura 9. Materiales y equipamiento utilizados para la realización del estudio.



Fig. 9a. Bomba de infusión.



Fig. 9b. Unidad de trabajo y vaporizadores.

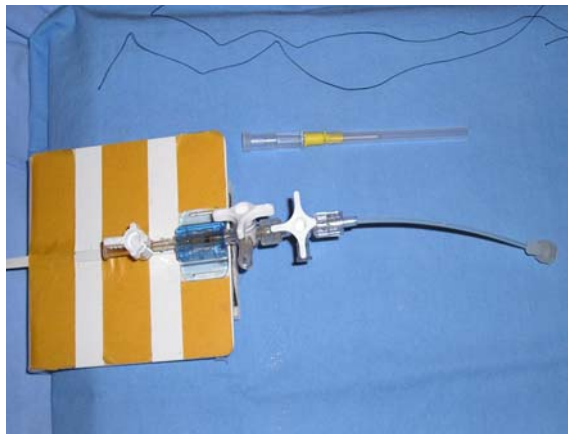


Fig. 9c. Suturas de seda, catéter de teflón para arteria, transductor de presión y prolongador de línea arterial.



Fig. 9d. Circuito anestésico en T-Ayre y catéter para toma de muestras de gas tele-espiratorio.



Fig. 9e. Otoscopio para intubación endotraqueal.



Fig. 9f. Pinza hemostática Rochester-Pean.



Fig. 9g. Unidad de calentamiento.



Fig. 9h. Analizador de gases y pH.

Figura 10. Método utilizado para la medición de la CAM (Quasha y col, 1980).



Aplicación del estímulo doloroso supramáximo mediante clampaje de la base de la cola.

Figura 11. Procedimiento de intubación endotraqueal. Método de Weksler y col.(1994).



Fig. 11a. Una vez inducida la anestesia, la rata se posiciona en decúbito supino.



Fig. 11b. El otoscopio es introducido en la orofaringe y, mediante visualización directa, se inserta la guía de teflón en la laringe.

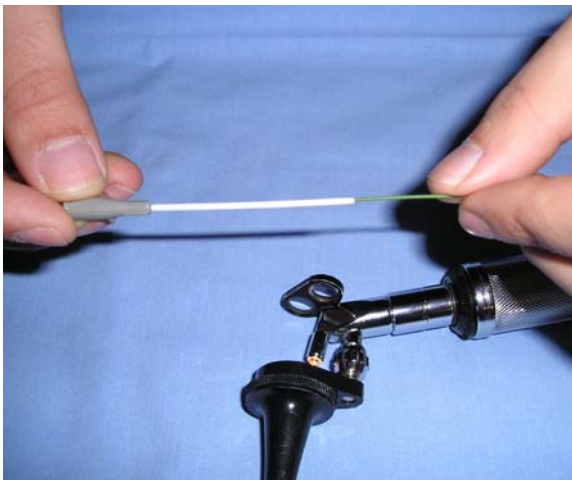


Fig. 11c. El catéter de teflón, que servirá de tubo endotraqueal, se introduce a través de la guía y se desliza hasta la tráquea.



Fig. 11d. Una vez asegurado el tubo al maxilar superior, se conecta al circuito anestésico en T-Ayre y al capnógrafo.

Figura 12. Procedimiento de cateterización de la arteria carótida y de la vena caudal.

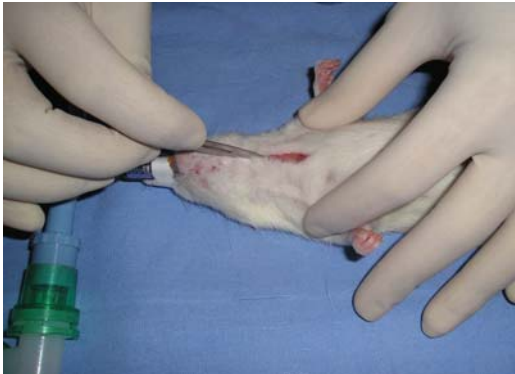


Fig. 12a. Incisión en la parte ventral del cuello a nivel de la línea media.



Fig. 12b. Abordaje quirúrgico de la arteria carótida.



Fig. 12c. Disección de la arteria carótida con dos suturas de hilo de seda.

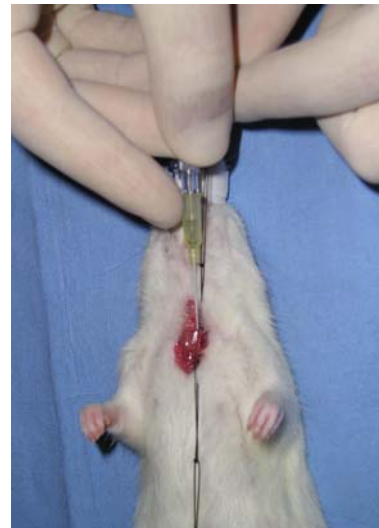


Fig. 12d. Inserción del catéter en la arteria carótida.

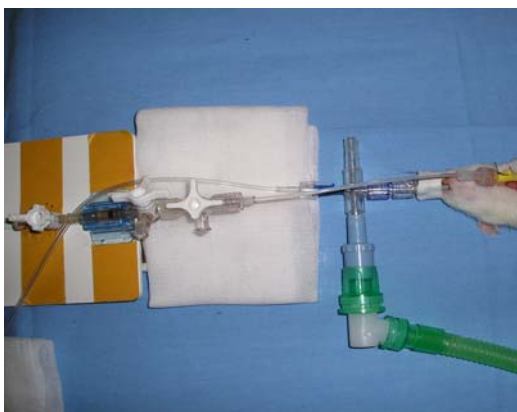


Fig. 12e. Conexión del catéter arterial al prolongador de línea y al transductor de presión.



Fig. 12f. Cateterización de la vena caudal.

Figura 13. Monitorización de los parámetros cardiovasculares, respiratorios y de la temperatura corporal.



Fig. 13a. Conexión del tubo endotraqueal al circuito anestésico en T-Ayre y al capnógrafo.

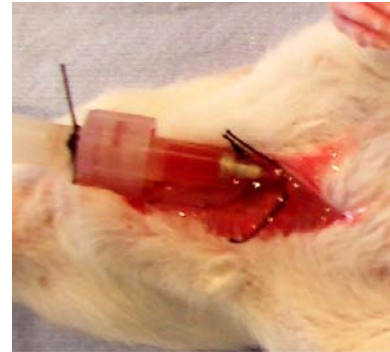


Fig. 13b. Catéter intra-arterial para la monitorización de la presión arterial invasiva.

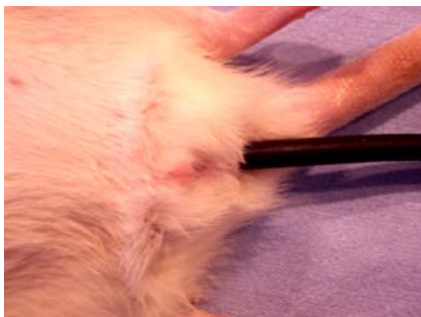
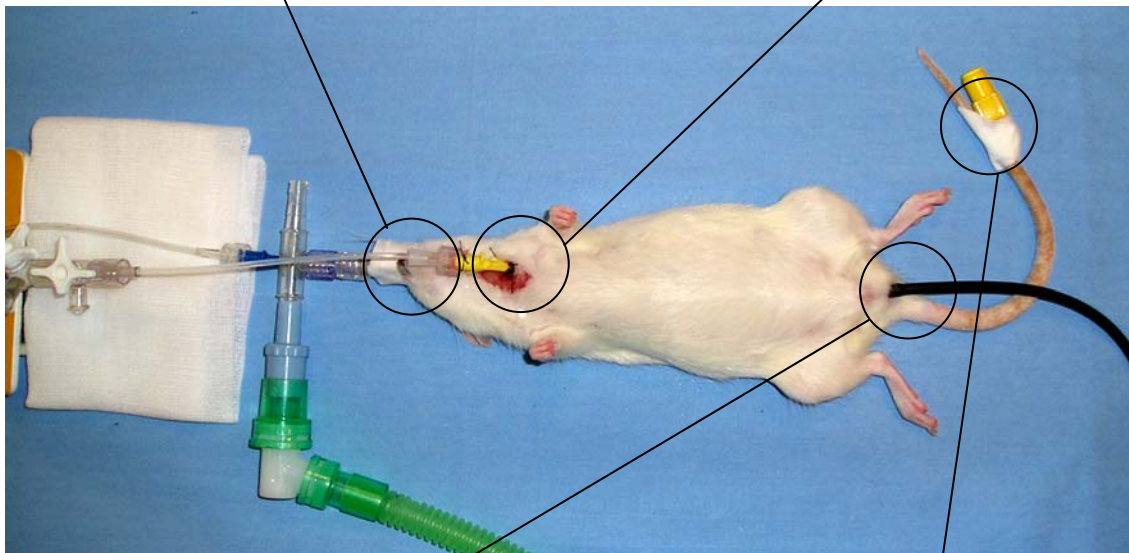


Fig. 13c. Termómetro rectal.



Fig. 13d. Catéter intravenoso para la administración de fármacos.

5. RESULTADOS

5.1. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)

Una vez obtenidos todos los valores de los parámetros cardiovasculares y respiratorios, la temperatura, la CAM de halotano/isoflurano y los porcentajes de reducción de la CAM de halotano/isoflurano de cada uno de los animales de los grupos de estudio, y tras comprobar que todos estos datos seguían una distribución normal, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía. Los resultados descriptivos del análisis de varianza obtenidos fueron la media, la desviación típica (DT), el error típico de la media (ETM) y los límites superior e inferior del intervalo de confianza del 99% para cada uno de los parámetros medidos y cada uno de los grupos de estudio. Estos resultados se muestran en las tablas 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25, 28, 31, 34 y 37.

Con este análisis de varianza, el cual realiza comparaciones de los resultados descriptivos anteriormente indicados entre todos los grupos de estudio, se comprobó que existían diferencias significativas al 99% ($p < 0,01$) entre alguno de los grupos en los valores de los siguientes parámetros:

- Frecuencia cardíaca
- Presión arterial sistólica
- Presión arterial diastólica
- Presión arterial media
- Frecuencia respiratoria
- pH
- CAM
- Porcentaje de reducción de la CAM

A continuación se realizó un análisis de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer para comprobar entre qué pares de grupos existían diferencias estadísticamente significativas.

5.2. RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE TUKEY-KRAMER

Los datos del estudio de varianza fueron sometidos a un análisis de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer en el que se fijó un valor de significación $p < 0,01$ (Tablas 8, 9, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 32, 33, 35, 36, 38, y 39). Una vez obtenidos los resultados de este análisis estadístico para cada uno de los parámetros medidos, se consideró que las diferencias entre los pares de grupos eran estadísticamente significativas cuando diferían al 99% ($p < 0,01$).

Para los parámetros cardiovasculares y respiratorios, la temperatura y el pH tan sólo se tuvieron en cuenta, de entre todos los pares de comparaciones, las realizadas entre los siguientes grupos:

- DEX+SAL+HAL y SAL+HAL
- SAL+MID+HAL y SAL+HAL
- DEX+MID+HAL y SAL+HAL
- DEX+SAL+ISO y SAL+ISO
- SAL+MID+ISO y SAL+ISO
- DEX+MID+ISO y SAL+ISO
- SAL+HAL y SAL+ISO
- DEX+SAL+HAL y DEX+SAL+ISO
- SAL+MID+HAL y SAL+MID+ISO
- DEX+MID+HAL y DEX+MID+ISO.

Es decir, se compararon todos los grupos de halotano con su grupo control, todos los grupos de isoflurano con su grupo control y los pares de grupos homólogos de halotano y de isoflurano entre sí.

Para el parámetro CAM, tan sólo se tuvieron en cuenta las comparaciones realizadas de todos los grupos de halotano con su grupo control y del grupo DEX+MID+HAL con los grupos SAL+MID+HAL y DEX+SAL+HAL, y de idéntica forma para los grupos de isoflurano. Sin embargo, no se compararon los grupos homólogos de halotano y de isoflurano entre sí, puesto que se trata de dos anestésicos inhalatorios con diferente potencia, y por tanto, no se pueden comparar las CAM entre sí.

Para el parámetro porcentaje de reducción de la CAM tan sólo se compararon los grupos homólogos de halotano y de isoflurano entre sí y los grupos DEX+MID de cada agente con sus respectivos grupos SAL+MID y DEX+SAL.

Parámetros cardiovasculares

La frecuencia cardiaca (FC) de todos los grupos en los que se administró la infusión intravenosa continua de dexmedetomidina (DEX+SAL+HAL, DEX+SAL+ISO, DEX+MID+HAL y DEX+MID+ISO) presentó una reducción estadísticamente significativa ($p < 0,01$) con respecto los grupos control, tanto de halotano como de isoflurano (SAL+HAL y SAL+ISO). Sin embargo, en el grupo SAL+MID+ISO la FC obtenida fue mayor que la del grupo SAL+ISO de manera estadísticamente significativa ($p < 0,01$). En el grupo SAL+MID+HAL la FC obtenida fue similar a la del grupo control de halotano. No se observaron diferencias estadísticamente significativas de FC entre los pares de grupos homólogos de halotano y de isoflurano.

Estos resultados se muestran en la figura 6, donde se han representado las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$) encontradas entre el valor medio \pm DT de FC de cada uno de los grupos con respecto a su grupo control mediante el símbolo “#”.

Las presiones arteriales diastólica, sistólica y media (PAD, PAS y PAM respectivamente) de los grupos DEX+SAL+ISO y DEX+MID+ISO fueron significativamente menores ($p < 0,01$) que las del grupo control de isoflurano (SAL+ISO). Sin embargo, en ninguno de los grupos de halotano las presiones arteriales fueron significativamente menores que las de los animales del grupo control (SAL+HAL). Tampoco se observaron diferencias significativas de ninguna de las presiones arteriales entre los grupos homólogos de halotano y de isoflurano.

Estos resultados se muestran en las figuras 7, 8 y 9, correspondientes a la PAS, PAD y PAM respectivamente, donde se han representado las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$) encontradas entre los valores medios \pm DT de cada uno de los grupos con respecto a su grupo control mediante el símbolo “#”.

Parámetros respiratorios

Los valores medios \pm DT del parámetro frecuencia respiratoria (FR) de los grupos DEX+SAL+HAL y DEX+MID+HAL fueron significativamente menores ($p < 0,01$) que los correspondientes de su grupo control (SAL+HAL). El valor medio \pm DT del parámetro FR

del grupo SAL+MID+ISO fue significativamente menor ($p < 0,01$) que el correspondiente de su grupo homólogo SAL+MID+HAL.

Estos resultados del parámetro FR se muestran gráficamente en la figura 10 donde las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$) encontradas entre cada grupo con respecto a su grupo control se han representado mediante el símbolo “ # ”. Las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$) encontradas entre los grupos homólogos de halotano y de isoflurano se han representado por medio del símbolo “ Ψ ”.

Ninguno de los grupos de estudio presentó diferencias estadísticamente significativas en los valores medios \pm DT de los parámetros presión arterial de oxígeno y presión arterial de dióxido de carbono (PaO_2 y $PaCO_2$ respectivamente) con respecto al grupo control correspondiente. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre los grupos homólogos de halotano y de isoflurano.

Estos resultados están representados gráficamente en las figuras 11 y 12, correspondientes a los parámetros PaO_2 y $PaCO_2$ respectivamente.

pH

Ninguno de los grupos de estudio presentó diferencias estadísticamente significativas en los valores medios \pm DT del parámetro pH con respecto al grupo control correspondiente. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre los grupos homólogos de halotano y de isoflurano.

Estos resultados están representados gráficamente en la figura 13.

Temperatura

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el valor medio \pm DT del parámetro temperatura corporal entre los grupos de estudio y sus correspondientes grupos control. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre los grupos homólogos de halotano y de isoflurano.

Estos resultados se encuentran representados gráficamente en la figura 14.

Concentración alveolar mínima

Los resultados de CAM, expresados como los valores medios \pm DT, obtenidos en todos los grupos (DEX+SAL, SAL+MID y DEX+MID), tanto de halotano como de isoflurano, fueron significativamente inferiores ($p < 0,01$) a los valores de CAM de los grupos control (SAL+HAL y SAL+ISO) respectivos. La CAM del grupo DEX+MID+HAL fue significativamente menor ($p < 0,01$) que la del grupo SAL+MID+HAL. La CAM del grupo

DEX+MID+ISO fue significativamente menor ($p < 0,01$) que la de los grupos SAL+MID+ISO y DEX+MID+ISO.

Estos resultados se muestran de manera gráfica en la figura 15, donde se han representado las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$) encontradas en la CAM (valor medio \pm DT) de cada uno de los grupos con respecto a su grupo control correspondiente mediante el símbolo “ # ”; las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$) entre el grupo DEX+MID y el grupo SAL+MID correspondiente mediante el símbolo “ Φ ”; y las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$) entre el grupo DEX+MID y el grupo DEX+SAL correspondiente mediante el símbolo “ \S ”.

5.3. CUANTIFICACIÓN DEL TIPO DE INTERACCIÓN FARMACOLÓGICA

Los porcentajes de reducción de la CAM obtenidos cuando se administró la infusión intravenosa continua de dexmedetomidina de forma única fueron los siguientes:

- 72% para la CAM_{HAL}
- 43% para la CAM_{ISO}

Los porcentajes de reducción de la CAM obtenidos cuando se administró el bolo intravenoso de midazolam de forma única fueron los siguientes:

- 26% para la CAM_{HAL}
- 20% para la CAM_{ISO}

Los porcentajes de reducción de la CAM obtenidos cuando se administró la infusión intravenosa continua de dexmedetomidina en conjunto con el bolo intravenoso de midazolam fueron los siguientes:

- 90% para la CAM_{HAL}
- 78% para la CAM_{ISO}

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los porcentajes de reducción de la CAM de los grupos homólogos SAL+MID+HAL vs SAL+MID+ISO y DEX+MID+HAL vs DEX+MID+ISO, sin embargo, el porcentaje de reducción de la CAM del grupo DEX+SAL+HAL fue significativamente superior ($p < 0,01$) al obtenido en el grupo DEX+SAL+ISO. El porcentaje de reducción de la CAM de halotano del grupo DEX+MID fue significativamente mayor ($p < 0,01$) que el del grupo SAL+MID, no presentando diferencias con respecto al grupo DEX+SAL. Sin embargo, el porcentaje de reducción de la CAM de isoflurano del grupo DEX+MID fue significativamente mayor ($p < 0,01$) que el de los grupos SAL+MID y DEX+SAL.

Estos resultados se muestran de manera gráfica en la figura 16, donde se han representado las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$) encontradas en los

porcentajes de reducción de la CAM, expresados como valor medio \pm DT, entre el grupo DEX+MID y el grupo SAL+MID correspondiente mediante el símbolo “ Φ ”; entre el grupo DEX+MID y el grupo DEX+SAL correspondiente mediante el símbolo “ ξ ”; y entre los pares de grupos homólogos mediante el símbolo “ Ψ ”.

Según el modelo de adición propuesto por Ko y col (2000), los porcentajes de reducción esperados cuando se administra la infusión intravenosa continua de dexmedetomidina en conjunto con el bolo intravenoso de midazolam serían los siguientes:

- 98% para la CAM_{HAL}
- 63% para la CAM_{ISO}

Por lo tanto, la interacción que tiene lugar entre la dexmedetomidina y el midazolam en términos de reducción de la CAM_{HAL} no es sinérgica, puesto que no se obtuvo una mayor reducción de la CAM_{HAL} de la que se esperaría obtener al sumar los porcentajes de reducción de cada fármaco por separado. Sin embargo, el porcentaje de reducción de la CAM_{HAL} fue mayor que el obtenido al administrar dexmedetomidina de forma única ó midazolam de forma única, por lo que se puede decir que la interacción farmacológica entre estos dos agentes, en términos de reducción de la CAM_{HAL} , es de tipo aditivo.

Por el contrario, la interacción obtenida entre la dexmedetomidina y el midazolam en términos de reducción de la CAM_{ISO} es de tipo sinérgico, puesto que la reducción de la CAM_{ISO} obtenida fue mayor a la que se esperaría obtener al sumar los porcentajes de reducción de cada fármaco por separado.

Frecuencia cardiaca

| Grupo | N | Media | DT | ETM | Intervalo de confianza del 99% | |
|-------------|---|-------|----|-----|--------------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| DEX+MID+HAL | 7 | 281 | 24 | 9 | 248 | 315 |
| DEX+MID+ISO | 7 | 286 | 24 | 9 | 252 | 319 |
| DEX+SAL+HAL | 7 | 287 | 34 | 13 | 239 | 335 |
| DEX+SAL+ISO | 8 | 284 | 24 | 9 | 253 | 314 |
| SAL+HAL | 7 | 397 | 20 | 7 | 369 | 425 |
| SAL+ISO | 8 | 376 | 18 | 6 | 354 | 398 |
| SAL+MID+HAL | 7 | 413 | 25 | 9 | 378 | 448 |
| SAL+MID+ISO | 8 | 424 | 27 | 10 | 390 | 457 |

Tabla 7. Resultados descriptivos del ANOVA para la FC (lpm).

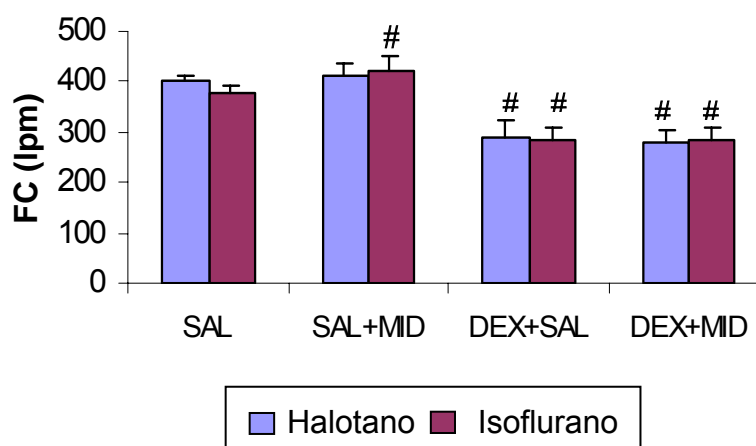


Figura 14. Representación gráfica de los valores medios \pm DT de la FC. # Diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$) con respecto al grupo control correspondiente.

| | SAL+MID +ISO | SAL+MID +HAL | SAL+HAL | SAL+ISO | DEX+SAL +HAL | DEX+MID +ISO | DEX+SAL +ISO | DEX+MID +HAL |
|-----------------|-----------------|-----------------|---------|---------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| SAL+MID +ISO | -46,542 | -37,283 | -21,568 | 0,958 | 88,432 | 89,860 | 93,458 | 94,146 |
| SAL+MID +HAL | -37,283 | -49,755 | -34,041 | -11,568 | 75,959 | 77,387 | 80,932 | 81,673 |
| SAL+HAL | -21,568 | -34,041 | -49,755 | -27,283 | 60,245 | 61,673 | 65,217 | 65,959 |
| SAL+ISO | 0,958 | -11,568 | -27,283 | -46,542 | 40,932 | 42,360 | 45,958 | 46,646 |
| DEX+SAL +HAL | 88,432 | 75,959 | 60,245 | 40,932 | -49,755 | -48,327 | -44,783 | -44,041 |
| DEX+MID +ISO | 89,860 | 77,387 | 61,673 | 42,360 | -48,327 | -49,755 | -46,211 | -45,470 |
| DEX+SAL +ISO | 93,458 | 80,932 | 65,217 | 45,958 | -44,783 | -46,211 | -46,542 | -45,854 |
| DEX+MID +HAL | 94,146 | 81,673 | 65,959 | 46,646 | -44,041 | -45,470 | -45,854 | -49,755 |

Tabla 8. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro FC. Los valores positivos indican la existencia de una diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p < 0,01$.

| GRUPO | GRUPO | Diferencia entre las medias | Límite de confianza inferior | Límite de confianza superior |
|-------------|-------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| SAL+MID+HAL | SAL+HAL | 15,7143 | -34,0411 | 65,4697 |
| SAL+HAL | DEX+SAL+HAL | 110,0000 | 60,2446 | 159,7554 |
| SAL+HAL | DEX+MID+HAL | 115,7143 | 65,9589 | 165,4697 |
| SAL+MID+ISO | SAL+ISO | 47,5000 | 0,9581 | 94,0419 |
| SAL+ISO | DEX+SAL+ISO | 92,5000 | 45,9581 | 139,0419 |
| SAL+ISO | DEX+MID+ISO | 90,5357 | 42,3603 | 138,7112 |
| SAL+HAL | SAL+ISO | 20,8929 | -27,2826 | 69,0683 |
| SAL+MID+ISO | SAL+MID+HAL | 10,8929 | -37,2826 | 59,0683 |
| DEX+SAL+HAL | DEX+SAL+ISO | 3,3929 | -44,7826 | 51,5683 |
| DEX+MID+ISO | DEX+MID+HAL | 4,2857 | -45,4697 | 54,0411 |

Tabla 9. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para la FC. Diferencia entre las medias y límites de confianza al 99% entre los pares de grupos indicados.

Presión arterial sistólica

| Grupo | N | Media | DT | ETM | Intervalo de confianza del 99% | |
|-------------|---|-------|----|-----|--------------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| DEX+MID+HAL | 7 | 85 | 7 | 3 | 75 | 95 |
| DEX+MID+ISO | 7 | 87 | 16 | 6 | 64 | 109 |
| DEX+SAL+HAL | 7 | 88 | 14 | 5 | 68 | 108 |
| DEX+SAL+ISO | 8 | 73 | 4 | 1 | 69 | 77 |
| SAL+HAL | 7 | 95 | 5 | 2 | 88 | 103 |
| SAL+ISO | 8 | 111 | 9 | 3 | 99 | 122 |
| SAL+MID+HAL | 7 | 110 | 10 | 4 | 96 | 125 |
| SAL+MID+ISO | 8 | 117 | 12 | 4 | 103 | 132 |

Tabla 10. Resultados descriptivos del ANOVA para la PAS (mmHg).

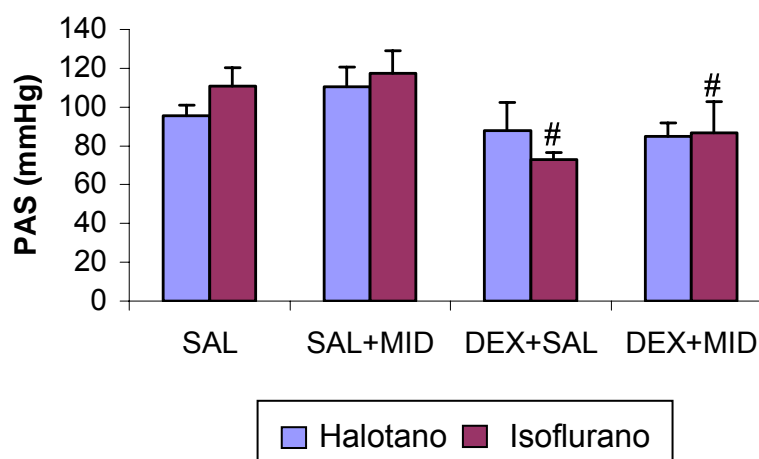


Figura 15. Representación gráfica de los valores medios \pm DT de la PAS. # Diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$) con respecto al grupo control correspondiente.

| | SAL+MID +ISO | SAL+ISO | SAL+MID +HAL | SAL+HAL | DEX+SAL +HAL | DEX+MID +ISO | DEX+MID +HAL | DEX+SAL +ISO |
|-----------------|-----------------|---------|-----------------|---------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| SAL+MID +ISO | -19,600 | -13,225 | -13,466 | 1,534 | 9,105 | 10,248 | 11,963 | 24,775 |
| SAL+ISO | -13,225 | -19,600 | -19,841 | -4,841 | 2,730 | 3,873 | 5,588 | 18,400 |
| SAL+MID +HAL | -13,466 | -19,841 | -20,953 | -5,953 | 1,619 | 2,762 | 4,476 | 17,266 |
| SAL+HAL | 1,534 | -4,841 | -5,953 | -20,953 | -13,381 | -12,238 | -10,524 | 2,266 |
| DEX+SAL +HAL | 9,105 | 2,730 | 1,619 | -13,381 | -20,953 | -19,810 | -18,096 | -5,305 |
| DEX+MID +ISO | 10,248 | 3,873 | 2,762 | -12,238 | -19,810 | -20,953 | -19,238 | -6,448 |
| DEX+MID +HAL | 11,963 | 5,588 | 4,476 | -10,524 | -18,096 | -19,238 | -20,953 | -8,162 |
| DEX+SAL +ISO | 24,775 | 18,400 | 17,266 | 2,266 | -5,305 | -6,448 | -8,162 | -19,600 |

Tabla 11. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro PAS. Los valores positivos indican la existencia de una diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p < 0,01$.

| GRUPO | GRUPO | Diferencia entre las medias | Límite de confianza inferior | Límite de confianza superior |
|-------------|-------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| SAL+MID+HAL | SAL+HAL | 15,00000 | -5,9528 | 35,95276 |
| SAL+HAL | DEX+SAL+HAL | 7,57143 | -13,3813 | 28,52419 |
| SAL+HAL | DEX+MID+HAL | 10,42857 | -10,5242 | 31,38133 |
| SAL+MID+ISO | SAL+ISO | 6,37500 | -13,2245 | 25,97451 |
| SAL+ISO | DEX+SAL+ISO | 38,00000 | 18,4005 | 57,59951 |
| SAL+ISO | DEX+MID+ISO | 24,16071 | 3,8733 | 44,44813 |
| SAL+ISO | SAL+HAL | 15,44643 | -4,8410 | 35,73385 |
| SAL+MID+ISO | SAL+MID+HAL | 6,82143 | -13,4660 | 27,10885 |
| DEX+SAL+HAL | DEX+SAL+ISO | 14,98214 | -5,3053 | 35,26956 |
| DEX+MID+ISO | DEX+MID+HAL | 1,71429 | -19,2385 | 22,66704 |

Tabla 12. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para la PAS. Diferencia entre las medias y límites de confianza al 99% entre los pares de grupos indicados.

Presión arterial diastólica

| Grupo | N | Media | DT | ETM | Intervalo de confianza del 99% | |
|-------------|---|-------|----|-----|--------------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| DEX+MID+HAL | 7 | 74 | 6 | 2 | 65 | 83 |
| DEX+MID+ISO | 7 | 73 | 14 | 5 | 53 | 93 |
| DEX+SAL+HAL | 7 | 76 | 15 | 6 | 56 | 97 |
| DEX+SAL+ISO | 8 | 60 | 4 | 1 | 55 | 65 |
| SAL+HAL | 7 | 85 | 5 | 2 | 79 | 92 |
| SAL+ISO | 8 | 94 | 11 | 4 | 81 | 107 |
| SAL+MID+HAL | 7 | 98 | 8 | 3 | 87 | 109 |
| SAL+MID+ISO | 8 | 99 | 16 | 6 | 79 | 120 |

Tabla 13. Resultados descriptivos del ANOVA para la PAD (mmHg).

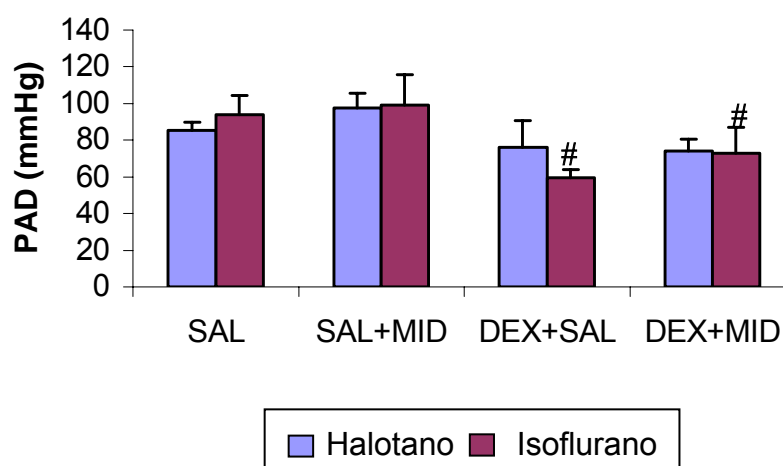


Figura 16. Representación gráfica de los valores medios \pm DT de la PAD. # Diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$) con respecto al grupo control correspondiente.

| | SAL+MID +ISO | SAL+MID +HAL | SAL+ISO | SAL+HAL | DEX+SAL +HAL | DEX+MID +HAL | DEX+MID +ISO | DEX+SAL +ISO |
|-----------------|-----------------|-----------------|---------|---------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| SAL+MID +ISO | -20,359 | -19,538 | -14,984 | -7,109 | 2,034 | 4,177 | 5,462 | 19,266 |
| SAL+MID +HAL | -19,538 | -21,764 | -17,234 | -9,336 | -0,193 | 1,950 | 3,236 | 17,016 |
| SAL+ISO | -14,984 | -17,234 | -20,359 | -12,484 | -3,341 | -1,198 | 0,087 | 13,891 |
| SAL+HAL | -7,109 | -9,336 | -12,484 | -21,764 | -12,622 | -10,479 | -9,193 | 4,587 |
| DEX+SAL +HAL | 2,034 | -0,193 | -3,341 | -12,622 | -21,764 | -19,622 | -18,336 | -4,555 |
| DEX+MID +HAL | 4,177 | 1,950 | -1,198 | -10,479 | -19,622 | -21,764 | -20,479 | -6,698 |
| DEX+MID +ISO | 5,462 | 3,236 | 0,087 | -9,193 | -18,336 | -20,479 | -21,764 | -7,984 |
| DEX+SAL +ISO | 19,266 | 17,016 | 13,891 | 4,587 | -4,555 | -6,698 | -7,984 | -20,359 |

Tabla 14. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro PAD. Los valores positivos indican la existencia de una diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p < 0,01$.

| GRUPO | GRUPO | Diferencia entre las medias | Límite de confianza inferior | Límite de confianza superior |
|-------------|-------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| SAL+MID+HAL | SAL+HAL | 12,42857 | -9,3358 | 34,19296 |
| SAL+HAL | DEX+SAL+HAL | 9,14286 | -12,6215 | 30,90724 |
| SAL+HAL | DEX+MID+HAL | 11,28571 | -10,4787 | 33,05010 |
| SAL+MID+ISO | SAL+ISO | 5,37500 | -14,9837 | 25,73372 |
| SAL+ISO | DEX+SAL+ISO | 34,25000 | 13,8913 | 54,60872 |
| SAL+ISO | DEX+MID+ISO | 21,16071 | 0,0874 | 42,23399 |
| SAL+ISO | SAL+HAL | 8,58929 | -12,4840 | 29,66256 |
| SAL+MID+ISO | SAL+MID+HAL | 1,53571 | -19,5376 | 22,60899 |
| DEX+SAL+HAL | DEX+SAL+ISO | 16,51786 | -4,5554 | 37,59113 |
| DEX+MID+HAL | DEX+MID+ISO | 1,28571 | -20,4787 | 23,05010 |

Tabla 15. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para la PAD. Diferencia entre las medias y límites de confianza al 99% entre los pares de grupos indicados.

Presión arterial media

| Grupo | N | Media | DT | ETM | Intervalo de confianza del 99% | |
|-------------|---|-------|----|-----|--------------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| DEX+MID+HAL | 7 | 78 | 7 | 2 | 68 | 87 |
| DEX+MID+ISO | 7 | 77 | 15 | 6 | 57 | 98 |
| DEX+SAL+HAL | 7 | 80 | 15 | 5 | 60 | 100 |
| DEX+SAL+ISO | 8 | 64 | 4 | 1 | 59 | 69 |
| SAL+HAL | 7 | 89 | 5 | 2 | 82 | 96 |
| SAL+ISO | 8 | 100 | 10 | 3 | 87 | 112 |
| SAL+MID+HAL | 7 | 102 | 9 | 3 | 90 | 114 |
| SAL+MID+ISO | 8 | 105 | 15 | 5 | 87 | 123 |

Tabla 16. Resultados descriptivos del ANOVA para la PAM (mmHg).

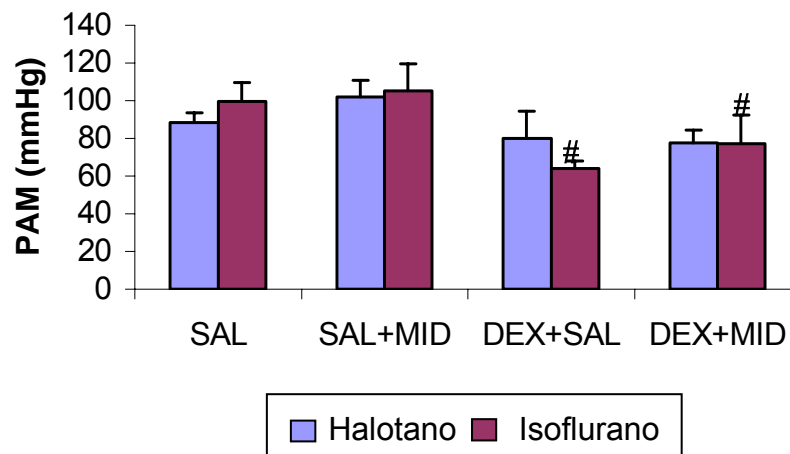


Figura 17. Representación gráfica de los valores medios \pm DT de la PAM. # Diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$) respecto al grupo control correspondiente.

| | SAL+MID +ISO | SAL+MID +HAL | SAL+ISO | SAL+HAL | DEX+SAL +HAL | DEX+MID +HAL | DEX+MID +ISO | DEX+SAL +ISO |
|-----------------|-----------------|-----------------|---------|---------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| SAL+MID +ISO | -19,815 | -17,213 | -14,107 | -3,928 | 4,691 | 7,072 | 7,358 | 21,393 |
| SAL+MID +HAL | -17,213 | -21,184 | -18,100 | -7,898 | 0,721 | 3,102 | 3,388 | 17,400 |
| SAL+ISO | -14,107 | -18,100 | -19,815 | -9,636 | -1,017 | 1,364 | 1,650 | 15,685 |
| SAL+HAL | -3,928 | -7,898 | -9,636 | -21,184 | -12,565 | -10,184 | -9,898 | 4,114 |
| DEX+SAL +HAL | 4,691 | 0,721 | -1,017 | -12,565 | -21,184 | -18,803 | -18,517 | -4,505 |
| DEX+MID +HAL | 7,072 | 3,102 | 1,364 | -10,184 | -18,803 | -21,184 | -20,898 | -6,886 |
| DEX+MID +ISO | 7,358 | 3,388 | 1,650 | -9,898 | -18,517 | -20,898 | -21,184 | -7,172 |
| DEX+SAL +ISO | 21,393 | 17,400 | 15,685 | 4,114 | -4,505 | -6,886 | -7,172 | -19,815 |

Tabla 17. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro PAM. Los valores positivos indican la existencia de una diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p < 0,01$.

| GRUPO | GRUPO | Diferencia entre las medias | Límite de confianza inferior | Límite de confianza superior |
|-------------|-------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| SAL+MID+HAL | SAL+HAL | 13,28571 | -7,8979 | 34,46933 |
| SAL+HAL | DEX+SAL+HAL | 8,61905 | -12,5646 | 29,80266 |
| SAL+HAL | DEX+MID+HAL | 11,00000 | -10,1836 | 32,18362 |
| SAL+MID+ISO | SAL+ISO | 5,70833 | -14,1071 | 25,52379 |
| SAL+ISO | DEX+SAL+ISO | 35,50000 | 15,6845 | 55,31546 |
| SAL+ISO | DEX+MID+ISO | 22,16071 | 1,6498 | 42,67166 |
| SAL+ISO | SAL+HAL | 10,87500 | -9,6359 | 31,38595 |
| SAL+MID+ISO | SAL+MID+HAL | 3,29762 | -17,2133 | 23,80857 |
| DEX+SAL+HAL | DEX+SAL+ISO | 16,00595 | -4,5050 | 36,51690 |
| DEX+MID+HAL | DEX+MID+ISO | 0,28571 | -20,8979 | 21,46933 |

Tabla 18. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para la PAM. Diferencia entre las medias y límites de confianza al 99% entre los pares de grupos indicados.

Frecuencia Respiratoria

| Grupo | N | Media | DT | ETM | Intervalo de confianza del 99% | |
|-------------|---|-------|----|-----|--------------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| DEX+MID+HAL | 7 | 53 | 13 | 5 | 35 | 71 |
| DEX+MID+ISO | 7 | 48 | 9 | 3 | 36 | 60 |
| DEX+SAL+HAL | 7 | 56 | 9 | 3 | 43 | 69 |
| DEX+SAL+ISO | 8 | 48 | 13 | 5 | 33 | 64 |
| SAL+HAL | 7 | 76 | 7 | 3 | 66 | 85 |
| SAL+ISO | 8 | 57 | 9 | 5 | 31 | 83 |
| SAL+MID+HAL | 7 | 76 | 6 | 2 | 67 | 85 |
| SAL+MID+ISO | 8 | 55 | 7 | 3 | 45 | 66 |

Tabla 19. Resultados descriptivos del ANOVA para la FR (rpm)

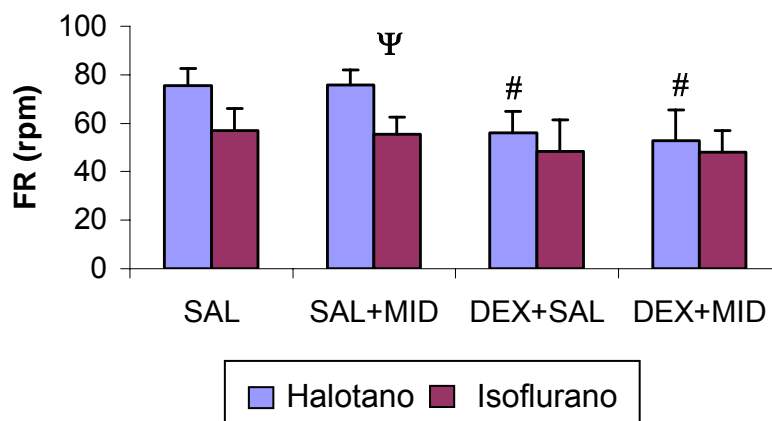


Figura 18. Representación gráfica de los valores medios \pm DT de la FR. # Diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$) con respecto al grupo control correspondiente. Ψ Diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$) entre los grupos homólogos.

| | SAL+MID +HAL | SAL+HAL | SAL+ISO | DEX+SAL +HAL | SAL+MID +ISO | DEX+MID +HAL | DEX+SAL +ISO | DEX+MID +ISO |
|-----------------|-----------------|---------|---------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| SAL+MID +HAL | -19,186 | -18,901 | -3,641 | 0,671 | 1,242 | 3,956 | 8,780 | 8,671 |
| SAL+HAL | -18,901 | -19,186 | -3,927 | 0,385 | 0,956 | 3,671 | 8,494 | 8,385 |
| SAL+ISO | -3,641 | -3,927 | -25,381 | -21,498 | -20,927 | -18,212 | -13,481 | -13,498 |
| DEX+SAL +HAL | 0,671 | 0,385 | -21,498 | -19,186 | -18,615 | -15,901 | -11,077 | -11,186 |
| SAL+MID +ISO | 1,242 | 0,956 | -20,927 | -18,615 | -19,186 | -16,472 | -11,649 | -11,758 |
| DEX+MID +HAL | 3,956 | 3,671 | -18,212 | -15,901 | -16,472 | -19,186 | -14,363 | -14,472 |
| DEX+SAL +ISO | 8,780 | 8,494 | -13,481 | -11,077 | -11,649 | -14,363 | -17,947 | -18,077 |
| DEX+MID +ISO | 8,671 | 8,385 | -13,498 | -11,186 | -11,758 | -14,472 | -18,077 | -19,186 |

Tabla 20. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro FR. Los valores positivos indican la existencia de una diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p < 0,01$.

| GRUPO | GRUPO | Diferencia entre las medias | Límite de confianza inferior | Límite de confianza superior |
|-------------|-------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| SAL+MID+HAL | SAL+HAL | 0,28571 | -18,9008 | 19,47218 |
| SAL+HAL | DEX+SAL+HAL | 19,57143 | 0,3850 | 38,75789 |
| SAL+HAL | DEX+MID+HAL | 22,85714 | 3,6707 | 42,04361 |
| SAL+ISO | SAL+MID+ISO | 1,57143 | -20,9267 | 24,06955 |
| SAL+ISO | DEX+SAL+ISO | 8,50000 | -13,4809 | 30,48086 |
| SAL+ISO | DEX+MID+ISO | 9,00000 | -13,4981 | 31,49813 |
| SAL+HAL | SAL+ISO | 18,57143 | -3,9267 | 41,06955 |
| SAL+MID+HAL | SAL+MID+ISO | 20,42857 | 1,2421 | 39,61504 |
| DEX+SAL+HAL | DEX+SAL+ISO | 7,50000 | -11,0772 | 26,07722 |
| DEX+MID+HAL | DEX+MID+ISO | 4,71429 | -14,4722 | 23,90075 |

Tabla 21. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para la FR. Diferencia entre las medias y límites de confianza al 99% entre los pares de grupos indicados.

Presión parcial de O₂ en sangre arterial

| Grupo | N | Media | DT | ETM | Intervalo de confianza del 99% | |
|-------------|---|-------|----|-----|--------------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| DEX+MID+HAL | 7 | 157 | 30 | 11 | 114 | 199 |
| DEX+MID+ISO | 7 | 169 | 88 | 36 | 24 | 314 |
| DEX+SAL+HAL | 7 | 153 | 63 | 24 | 64 | 242 |
| DEX+SAL+ISO | 8 | 162 | 87 | 33 | 41 | 284 |
| SAL+HAL | 7 | 196 | 43 | 16 | 136 | 256 |
| SAL+ISO | 8 | 169 | 46 | 16 | 112 | 227 |
| SAL+MID+HAL | 7 | 169 | 82 | 31 | 54 | 284 |
| SAL+MID+ISO | 8 | 210 | 80 | 30 | 98 | 322 |

Tabla 22. Resultados descriptivos del ANOVA para la PaO₂ (mmHg).

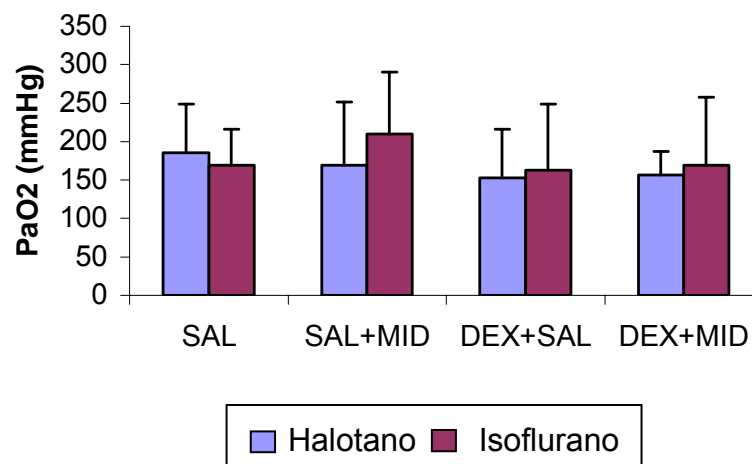


Figura 19. Representación gráfica de los valores medios \pm DT de la PaO₂.

| | SAL+MID +ISO | SAL+HAL | SAL+ISO | SAL+MID +HAL | DEX+MID +ISO | DEX+SAL +ISO | DEX+MID +HAL | DEX+SAL +HAL |
|-----------------|-----------------|---------|---------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| SAL+MID +ISO | -135,70 | -121,70 | -90,89 | -95,12 | -100,40 | -88,12 | -82,27 | -78,55 |
| SAL+HAL | -121,70 | -135,70 | -104,89 | -109,12 | -114,40 | -102,12 | -96,27 | -92,55 |
| SAL+ISO | -90,89 | -104,89 | -126,93 | -131,31 | -136,77 | -124,31 | -118,46 | -114,74 |
| SAL+MID +HAL | -95,12 | -109,12 | -131,31 | -135,70 | -140,97 | -128,70 | -122,84 | -119,12 |
| DEX+MID +ISO | -100,40 | -114,40 | -136,77 | -140,97 | -146,57 | -134,50 | -128,64 | -124,93 |
| DEX+SAL +ISO | -88,12 | -102,12 | -124,31 | -128,70 | -134,50 | -135,70 | -129,84 | -126,12 |
| DEX+MID +HAL | -82,27 | -96,27 | -118,46 | -122,84 | -128,64 | -129,84 | -135,70 | -131,98 |
| DEX+SAL +HAL | -78,55 | -92,55 | -114,74 | -119,12 | -124,93 | -126,12 | -131,98 | -135,70 |

Tabla 23. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro PaO₂. Los valores positivos indican la existencia de una diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p < 0,01$.

| GRUPO | GRUPO | Diferencia entre las medias | Límite de confianza inferior | Límite de confianza superior |
|-------------|-------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| SAL+HAL | SAL+MID+HAL | 26,57143 | -109,124 | 162,2666 |
| SAL+HAL | DEX+SAL+HAL | 43,14286 | -92,552 | 178,8380 |
| SAL+HAL | DEX+MID+HAL | 39,42857 | -96,267 | 175,1237 |
| SAL+MID+ISO | SAL+ISO | 40,50000 | -90,886 | 171,8863 |
| SAL+ISO | DEX+SAL+ISO | 7,07143 | -124,315 | 138,4577 |
| SAL+ISO | DEX+MID+ISO | 0,33333 | -136,768 | 137,4347 |
| SAL+HAL | SAL+ISO | 26,50000 | -104,886 | 157,8863 |
| SAL+MID+ISO | SAL+MID+HAL | 40,57143 | -95,124 | 176,2666 |
| DEX+SAL+ISO | DEX+SAL+HAL | 9,57143 | -126,124 | 145,2666 |
| DEX+MID+ISO | DEX+MID+HAL | 12,59524 | -128,641 | 153,8312 |

Tabla 24. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para la PaO₂. Diferencia entre las medias y límites de confianza al 99% entre los pares de grupos indicados.

Presión parcial de CO₂ en sangre arterial

| Grupo | N | Media | DT | ETM | Intervalo de confianza del 99% | |
|-------------|---|-------|----|-----|--------------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| DEX+MID+HAL | 7 | 46 | 5 | 2 | 39 | 53 |
| DEX+MID+ISO | 7 | 45 | 8 | 3 | 32 | 58 |
| DEX+SAL+HAL | 7 | 50 | 12 | 4 | 33 | 66 |
| DEX+SAL+ISO | 8 | 44 | 6 | 2 | 36 | 53 |
| SAL+HAL | 7 | 46 | 12 | 4 | 30 | 63 |
| SAL+ISO | 8 | 42 | 4 | 1 | 36 | 47 |
| SAL+MID+HAL | 7 | 43 | 5 | 2 | 36 | 51 |
| SAL+MID+ISO | 8 | 35 | 5 | 2 | 27 | 42 |

Tabla 25. Resultados descriptivos del ANOVA para PaCO₂ (mmHg).

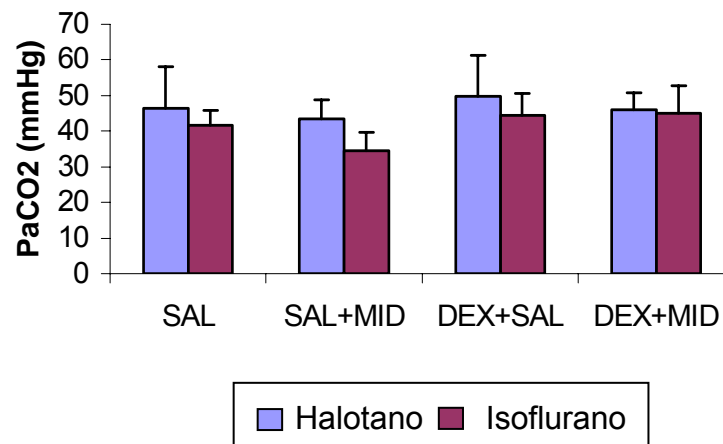


Figura 20. Representación gráfica de los valores medios \pm DT de la PaCO₂.

| | DEX+SAL +HAL | SAL+HAL | DEX+MID +HAL | DEX+MID +ISO | DEX+SAL +ISO | SAL+MID +HAL | SAL+ISO | SAL+MID +ISO |
|-----------------|-----------------|---------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|---------|-----------------|
| DEX+SAL +HAL | -15,229 | -11,900 | -11,600 | -11,100 | -9,871 | -8,957 | -6,670 | -0,086 |
| SAL+HAL | -11,900 | -15,229 | -14,929 | -14,429 | -13,200 | -12,286 | -9,999 | -3,414 |
| DEX+MID +HAL | -11,600 | -14,929 | -15,229 | -14,729 | -13,500 | -12,586 | -10,299 | -3,714 |
| DEX+MID +ISO | -11,100 | -14,429 | -14,729 | -16,449 | -15,243 | -14,329 | -12,061 | -5,458 |
| DEX+SAL +ISO | -9,871 | -13,200 | -13,500 | -15,243 | -15,229 | -14,314 | -12,027 | -5,443 |
| SAL+MID +HAL | -8,957 | -12,286 | -12,586 | -14,329 | -14,314 | -15,229 | -12,941 | -6,357 |
| SAL+ISO | -6,670 | -9,999 | -10,299 | -12,061 | -12,027 | -12,941 | -14,245 | -7,677 |
| SAL+MID +ISO | -0,086 | -3,414 | -3,714 | -5,458 | -5,443 | -6,357 | -7,677 | -15,229 |

Tabla 26. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro PaCO₂. Los valores positivos indican la existencia de una diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p < 0,01$.

| GRUPO | GRUPO | Diferencia entre las medias | Límite de confianza inferior | Límite de confianza superior |
|-------------|-------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|
| SAL+HAL | SAL+MID+HAL | 2,94286 | -12,2857 | 18,17146 |
| DEX+SAL+HAL | SAL+HAL | 3,32857 | -11,9000 | 18,55718 |
| SAL+HAL | DEX+MID+HAL | 0,30000 | -14,9286 | 15,52861 |
| SAL+ISO | SAL+MID+ISO | 7,06786 | -7,6772 | 21,81289 |
| DEX+SAL+ISO | SAL+ISO | 2,71786 | -12,0272 | 17,46289 |
| DEX+MID+ISO | SAL+ISO | 3,32500 | -12,0614 | 18,71142 |
| SAL+HAL | SAL+ISO | 4,74643 | -9,9986 | 19,49146 |
| SAL+MID+HAL | SAL+MID+ISO | 8,87143 | -6,3572 | 24,10003 |
| DEX+SAL+HAL | DEX+SAL+ISO | 5,35714 | -9,8715 | 20,58575 |
| DEX+MID+HAL | DEX+MID+ISO | 1,12143 | -14,7290 | 16,97186 |

Tabla 27. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para la PaCO₂. Diferencia entre las medias y límites de confianza al 99% entre los pares de grupos indicados.

pH

| Grupo | N | Media | DT | ETM | Intervalo de confianza del 99% | |
|-------------|---|-------|-------|-------|--------------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| DEX+MID+HAL | 7 | 7,246 | 0,037 | 0,014 | 7,194 | 7,298 |
| DEX+MID+ISO | 7 | 7,308 | 0,038 | 0,015 | 7,246 | 7,369 |
| DEX+SAL+HAL | 7 | 7,269 | 0,081 | 0,031 | 7,155 | 7,382 |
| DEX+SAL+ISO | 8 | 7,308 | 0,061 | 0,023 | 7,222 | 7,394 |
| SAL+HAL | 7 | 7,268 | 0,075 | 0,029 | 7,162 | 7,373 |
| SAL+ISO | 8 | 7,324 | 0,053 | 0,019 | 7,259 | 7,390 |
| SAL+MID+HAL | 7 | 7,319 | 0,040 | 0,015 | 7,262 | 7,375 |
| SAL+MID+ISO | 8 | 7,378 | 0,085 | 0,032 | 7,259 | 7,496 |

Tabla 28. Resultados descriptivos del ANOVA para el pH.

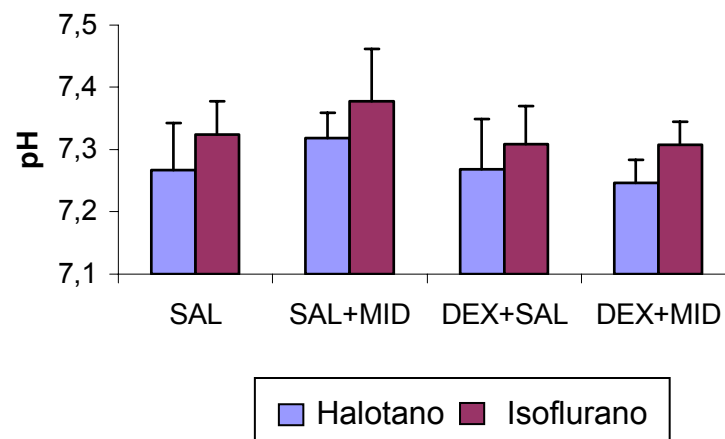


Figura 21. Representación gráfica de los valores medios \pm DT del pH.

| | SAL+MID +ISO | SAL+ISO | SAL+MID +HAL | DEX+SAL +ISO | DEX+MID +ISO | DEX+SAL +HAL | SAL+HAL | DEX+MID +HAL |
|-----------------|-----------------|---------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------|-----------------|
| SAL+MID +ISO | -0,12447 | -0,0670 | -0,06547 | -0,05519 | -0,05965 | -0,01547 | -0,01447 | 0,00667 |
| SAL+ISO | -0,06707 | -0,1164 | -0,11497 | -0,10468 | -0,10930 | -0,06497 | -0,06397 | -0,04282 |
| SAL+MID +HAL | -0,06547 | -0,1149 | -0,12447 | -0,11419 | -0,11865 | -0,07447 | -0,07347 | -0,05233 |
| DEX+SAL +ISO | -0,05519 | -0,1046 | -0,11419 | -0,12447 | -0,12894 | -0,08476 | -0,08376 | -0,06261 |
| DEX+MID +ISO | -0,05965 | -0,1093 | -0,11865 | -0,12894 | -0,13445 | -0,09046 | -0,08946 | -0,06832 |
| DEX+SAL +HAL | -0,01547 | -0,0649 | -0,07447 | -0,08476 | -0,09046 | -0,12447 | -0,12347 | -0,10233 |
| SAL+HAL | -0,01447 | -0,0639 | -0,07347 | -0,08376 | -0,08946 | -0,12347 | -0,12447 | -0,10333 |
| DEX+MID +HAL | 0,00667 | -0,0428 | -0,05233 | -0,06261 | -0,06832 | -0,10233 | -0,10333 | -0,12447 |

Tabla 29. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro pH. Los valores positivos indican la existencia de una diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p < 0,01$.

| GRUPO | GRUPO | Diferencia entre las medias | Límite de confianza inferior | Límite de confianza superior |
|-------------|-------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| SAL+MID+HAL | SAL+HAL | 0,0510000 | -0,073472 | 0,1754719 |
| DEX+SAL+HAL | SAL+HAL | 0,0010000 | -0,123472 | 0,1254719 |
| SAL+HAL | DEX+MID+HAL | 0,0211429 | -0,103329 | 0,1456148 |
| SAL+MID+ISO | SAL+ISO | 0,0534464 | -0,067073 | 0,1739659 |
| SAL+ISO | DEX+SAL+ISO | 0,0158393 | -0,104680 | 0,1363587 |
| SAL+ISO | DEX+MID+ISO | 0,0164583 | -0,109304 | 0,1422202 |
| SAL+ISO | SAL+HAL | 0,0565536 | -0,063966 | 0,1770730 |
| SAL+MID+ISO | SAL+MID+HAL | 0,0590000 | -0,065472 | 0,1834719 |
| DEX+SAL+ISO | DEX+SAL+HAL | 0,0397143 | -0,084758 | 0,1641862 |
| DEX+MID+ISO | DEX+MID+HAL | 0,0612381 | -0,068316 | 0,1907926 |

Tabla 30. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para el pH. Diferencia entre las medias y límites de confianza al 99% entre los pares de grupos indicados.

Temperatura

| Grupo | N | Media | DT | ETM | Intervalo de confianza del 99% | |
|-------------|---|-------|-----|-----|--------------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| DEX+MID+HAL | 7 | 37,5 | 0,2 | 0,1 | 37,2 | 37,8 |
| DEX+MID+ISO | 7 | 37,6 | 0,5 | 0,2 | 36,9 | 38,3 |
| DEX+SAL+HAL | 7 | 37,6 | 0,2 | 0,1 | 37,2 | 37,9 |
| DEX+SAL+ISO | 8 | 37,8 | 0,4 | 0,2 | 37,3 | 38,4 |
| SAL+HAL | 7 | 37,7 | 0,2 | 0,1 | 37,4 | 38,0 |
| SAL+ISO | 8 | 37,6 | 0,3 | 0,1 | 37,2 | 38,0 |
| SAL+MID+HAL | 7 | 37,6 | 0,2 | 0,1 | 37,3 | 37,8 |
| SAL+MID+ISO | 8 | 37,9 | 0,4 | 0,1 | 37,4 | 38,4 |

Tabla 31. Resultados descriptivos del ANOVA para la T^a (°C).

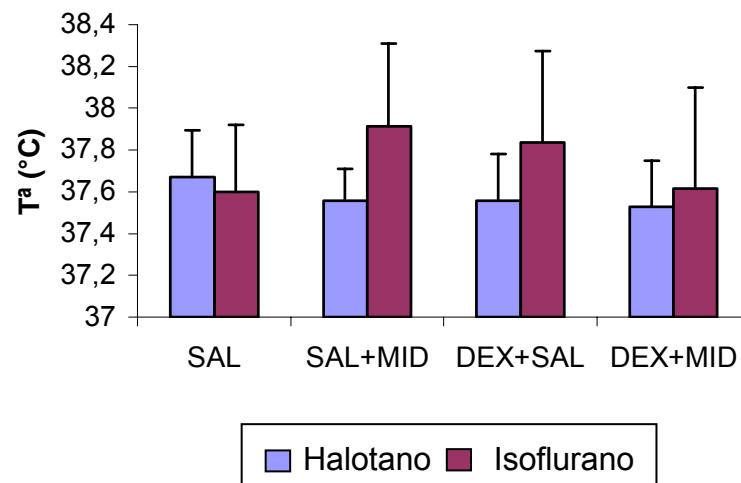


Figura 22. Representación gráfica de los valores medios \pm DT de la T^a.

| | SAL+MID +ISO | DEX+SAL +ISO | SAL+HAL | DEX+MID +ISO | SAL+ISO | DEX+SAL +HAL | SAL+MID +HAL | DEX+MID +HAL |
|-----------------|-----------------|-----------------|----------|-----------------|---------|-----------------|-----------------|-----------------|
| SAL+MID +ISO | -0,62101 | -0,54601 | -0,45888 | -0,34459 | -0,3085 | -0,28745 | -0,28745 | -0,25888 |
| DEX+SAL +ISO | -0,54601 | -0,62101 | -0,53388 | -0,41959 | -0,3835 | -0,36245 | -0,36245 | -0,33388 |
| SAL+HAL | -0,45888 | -0,53388 | -0,66389 | -0,54960 | -0,5142 | -0,49246 | -0,49246 | -0,46389 |
| DEX+MID +ISO | -0,34459 | -0,41959 | -0,54960 | -0,66389 | -0,6285 | -0,60674 | -0,60674 | -0,57817 |
| SAL+ISO | -0,30851 | -0,38351 | -0,51424 | -0,62852 | -0,6210 | -0,59995 | -0,59995 | -0,57138 |
| DEX+SAL +HAL | -0,28745 | -0,36245 | -0,49246 | -0,60674 | -0,5999 | -0,66389 | -0,66389 | -0,63532 |
| SAL+MID +HAL | -0,28745 | -0,36245 | -0,49246 | -0,60674 | -0,5999 | -0,66389 | -0,66389 | -0,63532 |
| DEX+MID +HAL | -0,25888 | -0,33388 | -0,46389 | -0,57817 | -0,5713 | -0,63532 | -0,63532 | -0,66389 |

Tabla 32. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro T^a . Los valores positivos indican la existencia de una diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p < 0,01$.

| GRUPO | GRUPO | Diferencia entre las medias | Límite de confianza inferior | Límite de confianza superior |
|-------------|-------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| SAL+HAL | SAL+MID+HAL | 0,1714286 | -0,492459 | 0,835316 |
| SAL+HAL | DEX+SAL+HAL | 0,1714286 | -0,492459 | 0,835316 |
| SAL+HAL | DEX+MID+HAL | 0,2000000 | -0,463888 | 0,863888 |
| SAL+MID+ISO | SAL+ISO | 0,3125000 | -0,308510 | 0,933510 |
| DEX+SAL+ISO | SAL+ISO | 0,2375000 | -0,383510 | 0,858510 |
| DEX+MID+ISO | SAL+ISO | 0,0142857 | -0,628521 | 0,657092 |
| SAL+HAL | SAL+ISO | 0,1285714 | -0,514235 | 0,771378 |
| SAL+MID+ISO | SAL+MID+HAL | 0,3553571 | -0,287449 | 0,998164 |
| DEX+SAL+ISO | DEX+SAL+HAL | 0,2803571 | -0,362449 | 0,923164 |
| DEX+MID+ISO | DEX+MID+HAL | 0,0857143 | -0,578174 | 0,749602 |

Tabla 33. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para la T^a . Diferencia entre las medias y límites de confianza al 99% entre los pares de grupos indicados.

Concentración alveolar mínima

| Grupo | N | Media | DT | ETM | Intervalo de confianza del 99% | |
|-------------|---|-------|------|------|--------------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| DEX+MID+HAL | 7 | 0,14 | 0,08 | 0,03 | 0,03 | 0,24 |
| DEX+MID+ISO | 7 | 0,32 | 0,07 | 0,03 | 0,22 | 0,43 |
| DEX+SAL+HAL | 7 | 0,36 | 0,22 | 0,08 | 0,06 | 0,67 |
| DEX+SAL+ISO | 8 | 0,83 | 0,20 | 0,07 | 0,58 | 1,08 |
| SAL+HAL | 7 | 1,31 | 0,10 | 0,04 | 1,17 | 1,45 |
| SAL+ISO | 8 | 1,46 | 0,05 | 0,02 | 1,40 | 1,52 |
| SAL+MID+HAL | 7 | 0,96 | 0,13 | 0,05 | 0,78 | 1,14 |
| SAL+MID+ISO | 8 | 1,17 | 0,10 | 0,04 | 1,04 | 1,30 |

Tabla 34. Resultados descriptivos del ANOVA para la CAM (% vol)

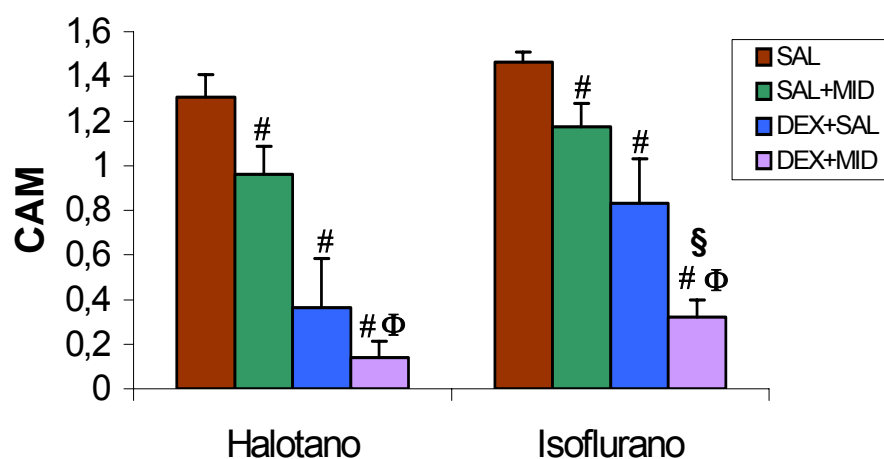


Figura 23. Representación gráfica de los valores medios \pm DT de la CAM. # Diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$) con respecto al grupo control correspondiente. Φ Diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$) entre el grupo DEX+MID y el grupo SAL+MID correspondiente. \S Diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$) entre el grupo DEX+MID y el grupo DEX+SAL correspondiente.

| | SAL+ISO | SAL+HAL | SAL+MID+ISO | SAL+MID+HAL | DEX+SAL+ISO | DEX+SAL+HAL | DEX+MID+ISO | DEX+MID+HAL |
|-------------|---------|---------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| SAL+ISO | -0,2467 | -0,1005 | 0,0417 | 0,2472 | 0,3848 | 0,8425 | 0,8842 | 1,0682 |
| SAL+HAL | -0,1005 | -0,2638 | -0,1218 | 0,0840 | 0,2212 | 0,6792 | 0,7209 | 0,9050 |
| SAL+MID+ISO | 0,0417 | -0,1218 | -0,2467 | -0,0412 | 0,0963 | 0,5540 | 0,5957 | 0,7798 |
| SAL+MID+HAL | 0,2472 | 0,0840 | -0,0412 | -0,2638 | -0,1265 | 0,3315 | 0,3732 | 0,5572 |
| DEX+SAL+ISO | 0,3848 | 0,2212 | 0,0963 | -0,1265 | -0,2467 | 0,2110 | 0,2527 | 0,4367 |
| DEX+SAL+HAL | 0,8425 | 0,6792 | 0,5540 | 0,3315 | 0,2110 | -0,2638 | -0,2221 | -0,0381 |
| DEX+MID+ISO | 0,8842 | 0,7209 | 0,5957 | 0,3732 | 0,2527 | -0,2221 | -0,2638 | -0,0797 |
| DEX+MID+HAL | 1,0682 | 0,9050 | 0,7798 | 0,5572 | 0,4367 | -0,0381 | -0,0797 | -0,2638 |

Tabla 35. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro CAM. Los valores positivos indican la existencia de una diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p < 0,01$.

| GRUPO | GRUPO | Diferencia entre las medias | Límite de confianza inferior | Límite de confianza superior |
|-------------|-------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|
| SAL+HAL | SAL+MID+HAL | 0,347754 | 0,08398 | 0,611524 |
| SAL+HAL | DEX+SAL+HAL | 0,943017 | 0,67925 | 1,206787 |
| SAL+HAL | DEX+MID+HAL | 1,168731 | 0,90496 | 1,432501 |
| DEX+MID+HAL | SAL+MID+HAL | 0,820977 | 0,55721 | 1,084748 |
| DEX+MID+HAL | DEX+SAL+HAL | 0,225714 | -0,03806 | 0,489485 |
| SAL+ISO | SAL+MID+ISO | 0,288454 | 0,04172 | 0,535188 |
| SAL+ISO | DEX+SAL+ISO | 0,631488 | 0,38475 | 0,878223 |
| SAL+ISO | DEX+MID+ISO | 1,139558 | 0,88416 | 1,394953 |
| DEX+MID+ISO | SAL+MID+ISO | 0,851104 | 0,59571 | 1,106499 |
| DEX+MID+ISO | DEX+SAL+ISO | 0,508070 | 0,25268 | 0,763464 |

Tabla 36. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para la CAM. Diferencia entre las medias y límites de confianza al 99% entre los pares de grupos indicados.

Porcentaje de reducción de la CAM

| Grupo | N | Media | DT | ETM | Intervalo de confianza del 99% | |
|-------------|---|-------|----|-----|--------------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| SAL+MID+HAL | 7 | 26 | 11 | 4 | 11 | 41 |
| SAL+MID+ISO | 8 | 20 | 9 | 3 | 9 | 30 |
| DEX+SAL+HAL | 7 | 72 | 17 | 7 | 47 | 96 |
| DEX+SAL+ISO | 8 | 43 | 14 | 5 | 26 | 60 |
| DEX+MID+HAL | 7 | 90 | 5 | 2 | 82 | 97 |
| DEX+MID+ISO | 7 | 78 | 5 | 2 | 71 | 85 |

Tabla 37. Resultados descriptivos del ANOVA para el porcentaje de reducción de la CAM (%)

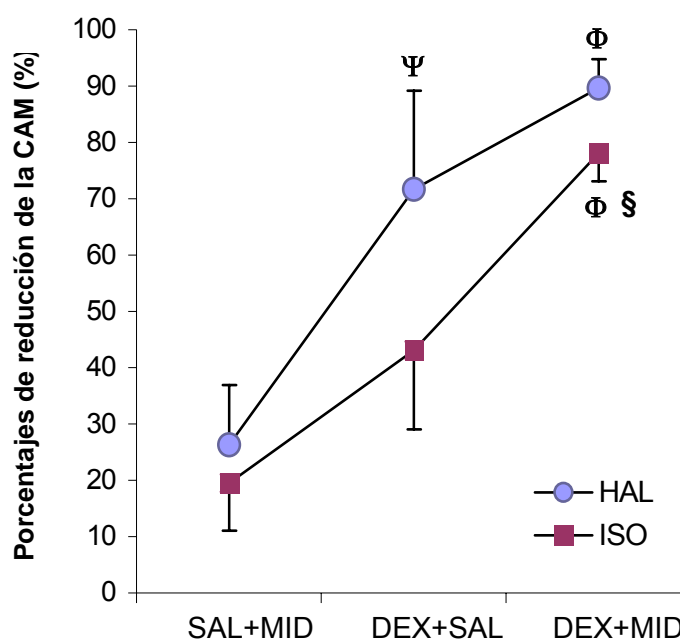


Figura 24. Representación gráfica de los valores medios \pm DT de los porcentajes de reducción de la CAM. Φ Diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$) entre el grupo DEX+MID y el grupo SAL+MID correspondiente. \S Diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$) entre el grupo DEX+MID y el grupo DEX+SAL correspondiente. Ψ Diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$) entre los grupos homólogos.

| | DEX+MID +HAL | DEX+MID +ISO | DEX+SAL +HAL | DEX+SAL +ISO | SAL+MID +HAL | SAL+MID +ISO |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| DEX+MID +HAL | -21,548 | -9,953 | -3,590 | 25,667 | 41,762 | 49,202 |
| DEX+MID +ISO | -9,953 | -21,548 | -15,186 | 14,071 | 30,166 | 37,607 |
| DEX+SAL +HAL | -3,590 | -15,186 | -21,548 | 7,709 | 23,804 | 31,244 |
| DEX+SAL +ISO | 25,667 | 14,071 | 7,709 | -20,157 | -4,085 | 3,379 |
| SAL+MID +HAL | 41,762 | 30,166 | 23,804 | -4,085 | -21,548 | -14,108 |
| SAL+MID +ISO | 49,202 | 37,607 | 31,244 | 3,379 | -14,108 | -20,157 |

Tabla 38. Análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer del parámetro % de reducción de la CAM. Los valores positivos indican la existencia de una diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p < 0,01$.

| GRUPO | GRUPO | Diferencia entre las medias | Límite de confianza inferior | Límite de confianza superior |
|-------------|-------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|
| DEX+MID+HAL | SAL+MID+HAL | 63,30983 | 41,7616 | 84,85810 |
| DEX+MID+HAL | DEX+SAL+HAL | 17,95781 | -3,5905 | 39,50608 |
| DEX+MID+ISO | SAL+MID+ISO | 58,47067 | 37,6066 | 79,33469 |
| DEX+MID+ISO | DEX+SAL+ISO | 34,93543 | 14,0714 | 55,79945 |
| SAL+MID+HAL | SAL+MID+ISO | 6,75617 | -14,1078 | 27,62020 |
| DEX+SAL+HAL | DEX+SAL+ISO | 28,57295 | 7,7089 | 49,43697 |
| DEX+MID+HAL | DEX+MID+ISO | 11,59534 | -9,9529 | 33,14361 |

Tabla 39. Resultados descriptivos del análisis estadístico de Tukey-Kramer para el % de reducción de la CAM. Diferencia entre las medias y límites de confianza al 99% entre los pares de grupos indicados.

6. *DISCUSIÓN*

La farmacocinética de la dexmedetomidina administrada en infusión intravenosa continua ha sido estudiada y descrita en ratas (Bol y col, 1997) y en humanos (Dyck y Shafer, 1993). Bol y col (1997) estudiaron dos tipos de regímenes de infusión en ratas, en un grupo administraron una infusión continua de 3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ de dexmedetomidina durante 10 min, mientras que en el otro grupo administraron cinco infusiones consecutivas, de 10 min cada una, de dosis incrementales de 0,1, 0,25, 0,5, 1,0 y 2,0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ de dexmedetomidina. En ambos regímenes de infusión la concentración plasmática de dexmedetomidina aumentaba rápidamente, alcanzando los niveles máximos, en función de la dosis, una vez transcurridos los 10 minutos de infusión, con una vida media de distribución de 1,7 min. En el grupo de animales donde administraron dosis incrementales de dexmedetomidina, los efectos cardiovasculares eran leves durante las infusiones de 0,1 y 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, afectándose de manera más intensa a medida que aumentaban las dosis de infusión. Se ha visto que el efecto sedante y el bloqueo simpaticoadrenal se producen a concentraciones plasmáticas bajas, observándose una ralentización y un aumento de la amplitud del EEG a niveles tan bajos como 0,2 ng/ml , concentraciones que se alcanzan con una infusión de 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ de dexmedetomidina (Bol y col, 1997 y 1999). Por tanto, para la realización del presente estudio se utilizó una dosis de dexmedetomidina de 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ al considerarla una dosis segura, desde el punto de vista cardiovascular, dentro del rango de dosis que pueden ser utilizadas según los resultados del estudio de Bol y col (1997). Dado que los efectos sedantes aparecen a concentraciones bajas, se estimó que esta dosis podía ser adecuada para observar posibles cambios relativos a la CAM de halotano o de isoflurano, sin que se produjera una excesiva depresión cardiovascular como consecuencia de la asociación de la acción simpaticolítica central debida a la dexmedetomidina y la depresión originada por el agente inhalatorio.

Se ha descrito que las reducciones del gasto cardíaco afectan a la captación y eliminación de los anestésicos inhalatorios (Steffey, 1996), lo cual podría afectar a la determinación de la CAM. En el presente estudio no se utilizó una dosis de carga de dexmedetomidina antes de iniciar la infusión, sino que la infusión se inició 30 min antes de proceder a la primera determinación de la CAM, para evitar una excesiva depresión cardiovascular asociada a un aumento rápido de la concentración plasmática de este agente, lo cual perjudicaría a la determinación de la CAM. El tiempo necesario para alcanzar el 90% de la concentración plasmática en estado estable mediante la administración de dexmedetomidina en infusión intravenosa continua, sin una dosis de carga, sería de aproximadamente 3,3 veces su vida media terminal (57.4 ± 3.6 min) (Bol y col, 1997), es decir, unas 3 horas. En el presente estudio, el tiempo que transcurrió desde el inicio de la infusión hasta que se determinó la CAM, en todos los grupos de ratas a las que se les administró dexmedetomidina fue similar (media $82,5 \pm 7,5$ min; rango 75 - 90 min). Esto quiere decir que transcurrió 2 veces el tiempo de vida media terminal de la dexmedetomidina y que las concentraciones plasmáticas alcanzadas en el momento de determinación de la CAM serían, aproximadamente, un 75% de la concentración en estado estable, es decir, unos 3 ng/ml, en todos los grupos a los que se administró este fármaco.

Por otro lado, en el presente estudio se administró una dosis única de 1 mg/kg de midazolam por vía intravenosa, dosis que ha sido utilizada previamente por vía intraarterial para determinar el porcentaje de reducción de la CAM de halotano en ratas (Greiner y Larach, 1989). Según la farmacocinética del midazolam, la depresión del SNC es máxima a los 3 min post-administración por vía intravenosa (Way y Trevor, 1988). En el presente estudio se esperó un tiempo de 15 min tras la administración del midazolam, que es el tiempo mínimo necesario para conseguir el equilibrio entre las concentraciones de anestésico inhalatorio presentes en el gas alveolar, la sangre arterial y el cerebro (Eger y col, 1965). Este tiempo se consideró suficiente para que el midazolam produjera su efecto depresor máximo en el SNC, antes de comenzar a determinar la CAM. Por otro lado, el tiempo que se tardó en determinar la CAM tanto de halotano como de isoflurano, desde la administración del bolo en los grupos de ratas a las que se administró midazolam, fue similar (media $67,5 \pm 7,5$ min; rango 60 - 75 min). Greiner y Larach (1989) observaron que el porcentaje de reducción de la CAM de halotano tras la administración de un bolo intraarterial de 1 mg/kg de midazolam en ratas era similar a los 30 min y a los 60 min post-administración. Es posible que la vida media terminal de este fármaco, que se ha calculado que es de 39,2 min (Lau y col, 1998), esté aumentada cuando se administra en conjunto con un anestésico inhalatorio.

El método que se utilizó para la determinación de la CAM de halotano y de isoflurano fue el que describieron Merkel y Eger (1963), y posteriormente Quasha y col (1980). Un requerimiento esencial para determinar la CAM de cualquier anestésico inhalatorio en cualquier especie animal es la aplicación de un estímulo doloroso supramáximo. Están validados diversos tipos de estímulos nociceptivos, por considerar que son supramáximos, para la determinación de la CAM. En ratas, el que se utiliza con mayor frecuencia es el clampaje de la base de la cola durante un minuto, en otras especies se pueden clampar los pliegues interdigitales durante un minuto (perro) o aplicar una corriente eléctrica subcutánea de 50 Voltios a 50 ciclos/seg durante 10 mseg (caballo) (Quasha y col, 1980). Se han estandarizado las respuestas positivas y negativas ante la aplicación del estímulo doloroso supramáximo, para una mayor objetividad de los estudios de la CAM. Una respuesta positiva se asume que es cuando el animal presenta un movimiento muscular voluntario y brusco de las extremidades, de la cabeza o del cuerpo, mientras que una respuesta negativa se considera que es cuando el animal no se mueve, traga, mastica, tose, realiza una mueca o presenta un tic nervioso (Quasha y col, 1980).

El tiempo mínimo necesario para alcanzar el 95% del equilibrio entre las presiones parciales de halotano presentes en el gas alveolar o tele-espiratorio, la sangre arterial y el SNC, se ha estimado en 15 min, por tanto, este tiempo necesario probablemente es menor para el isoflurano al ser su solubilidad en la sangre menor (Eger, 1965). En un estudio de determinación de la CAM de halotano realizado por Greiner y Larach (1989) se utilizó un tiempo de equilibrio de tan solo 8 min. En el presente estudio se mantuvo la misma concentración tele-espiratoria durante un tiempo de 15 min con ambos agentes inhalatorios, antes de aplicar el estímulo doloroso supramáximo.

El aumento o la reducción de la concentración tele-espiratoria de los agentes inhalatorios, durante el proceso de determinación de la CAM, se ha propuesto que sea de un 10 - 20%, en función de la precisión buscada, consiguiendo una relación entre la fracción alveolar o tele-espiratoria y la fracción inspirada de anestésico superior a un 0,95 (Eger y col, 1965). En el presente estudio se incrementaron o redujeron las concentraciones de halotano o de isoflurano tele-espiratorias, entre dos determinaciones consecutivas, en un 0,1% - 0,2%, que son las mínimas variaciones que posibilitaba el analizador de gases utilizado, y se consiguió una relación entre la fracción alveolar y la fracción inspirada de 0,95.

Los resultados de nuestro estudio muestran una clara afectación del sistema cardiovascular en los grupos donde se administró la infusión intravenosa continua de 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ dexmedetomidina, de manera única o en combinación con 1 mg/kg de

midazolam, observándose una reducción muy significativa tanto de la frecuencia cardiaca como de la presión arterial en estos grupos con respecto a los grupos control. Sin embargo, en los grupos de animales donde se administró midazolam de forma única no disminuyeron tales parámetros hemodinámicos. Por tanto, esta depresión cardiovascular es atribuible a la acción de la dexmedetomidina, y no al midazolam o a los agentes inhalatorios. Los efectos de la dexmedetomidina, administrada en infusión continua, sobre el sistema cardiovascular han sido estudiados en ratas no sometidas a anestesia general (Bol y col, 1997 y 1999). Bol y col (1997) observaron que se producía una rápida disminución de la frecuencia cardiaca, acompañada de un incremento de la presión arterial, inmediatamente después del inicio de las infusiones. Vickery y col (1988) realizaron un estudio para determinar los efectos cardiovasculares de una infusión intravenosa continua de dexmedetomidina, en perros anestesiados con halotano, en el que observaron que se originaba una disminución de la frecuencia cardiaca, sin que se modificara la presión arterial.

La disminución de la frecuencia cardiaca es un efecto constante y común a todos los agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 , que puede ser debida, por un lado a la acción simpaticolítica y por otro, al efecto vagomimético, que tienen lugar a nivel central (van Zwieten, 1988; van Zwieten y Chalmers, 1994). También se ha pensado que la bradicardia inicial tan marcada producida por la dexmedetomidina pudiera ser una respuesta refleja indirecta a la hipertensión (Schmeling y Bloor, 1993). Aunque nuestro estudio no permite dilucidar la causa o causas exactas de dicho descenso, sí pudimos observar que este efecto sobre la frecuencia cardiaca se producía de una manera constante en todos los animales de los grupos a los que se les administró dexmedetomidina, lo que lleva a pensar que esta bradicardia inducida se debe a un acción central más que a un reflejo secundario a la hipertensión.

En el grupo de animales anestesiados con isoflurano en los que se administró únicamente midazolam, se observó que la frecuencia cardiaca era superior a la del grupo control de isoflurano. Sin embargo, este aumento de la frecuencia cardiaca no se produjo en el grupo de ratas a las que se administró midazolam con halotano, así como tampoco en los grupos en los que se administró dexmedetomidina. Se ha descrito en humanos y en perros un aumento de la frecuencia cardiaca asociada a algunos anestésicos inhalatorios entre los que se encuentra el isoflurano, pero no el halotano (Eger, 1984; Pagel y col, 1991). Este aumento de la frecuencia cardiaca se produce principalmente a concentraciones alveolares bajas, como ocurrió en el grupo de isoflurano con midazolam. Estudios anteriores han mostrado que el midazolam afecta mínimamente al sistema cardiovascular, produciendo una disminución de la presión arterial y un aumento de la

frecuencia cardiaca y del gasto cardiaco, cambios todos ellos ligeros (10% - 20%) (Jones y col, 1979; Samuelson y col, 1981; Greiner y Larach, 1989). El bloqueo simpático-adrenal producido por la dexmedetomidina posiblemente fue el responsable de la ausencia de aumento de la frecuencia cardiaca en los grupos donde se administró conjuntamente dexmedetomidina e isoflurano.

Los efectos de la dexmedetomidina sobre la presión arterial varían en función de sus niveles plasmáticos. Se ha descrito un aumento de la presión arterial, cuando la concentración plasmática de dexmedetomidina es alta, por su acción sobre los receptores α_2 localizados en los lechos vasculares periféricos (van Zwieten y Chalmers, 1994). Sin embargo, cuando sus niveles plasmáticos son bajos, dominan los efectos simpaticolíticos centrales derivados de la unión de la dexmedetomidina a los receptores adrenérgicos α_2 localizados en los centros vasomotores del tronco encefálico (van Zwieten y Chalmers, 1994), lo cual, unido a sus acciones sobre los receptores imidazólicos noradrenérgicos centrales (Bol y col, 1997) y a la disminución de la estimulación de los receptores adrenérgicos α_1 localizados en los vasos, como consecuencia de la reducción de la concentración de noradrenalina (van Zwieten, 1988), da lugar a una disminución de la presión arterial. En el presente estudio no se observó hipertensión en ninguno de los grupos de ratas tratadas con dexmedetomidina. Bol y col (1997 y 1999) midieron la concentración efectiva 50 (CE_{50}) de dexmedetomidina que daba lugar al aumento de presión arterial en ratas, siendo ésta de $2,01 \pm 0,14$ $\eta\text{g/ml}$ en el primer estudio y de $1,90 \pm 0,48$ $\eta\text{g/ml}$ en el segundo. Bol y col (1997) determinaron la concentración plasmática máxima obtenida tras una infusión intravenosa de $0,25$ $\mu\text{g/kg/min}$ durante 10 min, la cual se encuentra muy próxima a la CE_{50} que produce el efecto hipertensor. Por tanto, una posible explicación de la ausencia de hipertensión, en las ratas de nuestro estudio, es que el aumento de la concentración plasmática de dexmedetomidina, con la infusión de $0,25$ $\mu\text{g/kg/min}$, fuera gradual y que el nivel máximo alcanzado fuera inferior a la CE_{50} que da lugar a hipertensión. En el caso de que se hubieran alcanzado tales niveles plasmáticos en el presente estudio, se ha descrito que todos los anestésicos inhalatorios, especialmente el halotano, atenúan la acción vasoconstrictora de los fármacos agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 de forma selectiva, *in vivo* e *in vitro* (Larach y col, 1987), lo cual podría haber contribuido a la ausencia de hipertensión en las ratas en las que se administró dexmedetomidina.

En nuestro estudio se observó una hipotensión en todos los grupos de ratas anestesiadas con isoflurano en los que se administró una infusión continua de dexmedetomidina, sin embargo, la presión arterial se mantuvo en valores similares a los

del grupo control en las ratas a las que se administró dexmedetomidina de forma única sometidas a anestesia con halotano. Vickery y col (1988) también pudieron observar que la dexmedetomidina no afectaba a la presión arterial media en perros anestesiados con una concentración de halotano equivalente a una vez la CAM para esta especie (1CAM).

Todos los anestésicos inhalatorios dan lugar a una disminución de la presión arterial de manera dosis-dependiente, observándose una normotensión o una pequeña reducción de la presión arterial a concentraciones de 1CAM (Steffey, 1996). El halotano reduce la PAM de un 20% a un 25% a la concentración de 1CAM, mientras que el isoflurano la disminuye en un 25% - 30% (Evers y Crowder, 2001). El mecanismo de producción de la hipotensión difiere entre el halotano y el isoflurano. El halotano disminuye la presión arterial al reducir la contractilidad miocárdica de forma directa, lo cual lleva a una reducción del gasto cardíaco, y además también deprime la capacidad del corazón de responder al reflejo de los barorreceptores (Evers y Crowder, 2001). Por el contrario, la hipotensión inducida por el isoflurano se debe a la reducción de la resistencia vascular sistémica consecuencia de la vasodilatación que produce en todos los lechos vasculares, pero principalmente en los de la piel y los músculos (Eger, 1984; Evers y Crowder, 2001). En el caso del isoflurano, el reflejo de los barorreceptores de aumento de la frecuencia cardíaca en respuesta a la disminución de la presión arterial también se encuentra deprimido; sin embargo, como hemos podido comprobar en el presente estudio, este agente puede producir taquicardia, la cual probablemente es debida a una estimulación directa de los receptores adrenérgicos β , que en el caso del miocardio son del tipo β_1 (Eger, 1984; Evers y Crowder, 2001). La vasodilatación inducida por el isoflurano parece ser debida a este incremento de la actividad β -adrenérgica, al menos en parte, como consecuencia de la estimulación de los receptores β_2 presentes en las paredes vasculares, aunque también se cree que puede ser debida a un efecto directo del isoflurano sobre el tono vascular (Eger, 1984). Independientemente de la causa de esta vasodilatación, este efecto producido por el isoflurano junto con la vasodilatación inducida por la dexmedetomidina, pueden explicar la mayor reducción de la presión arterial obtenida en los grupos en los que se administró conjuntamente dexmedetomidina e isoflurano.

Los animales pertenecientes a los grupos control y a los que se administró únicamente midazolam presentaban valores de presión arterial considerados normales. Se ha descrito que el midazolam afecta mínimamente a los parámetros cardiovasculares de forma no dependiente de la dosis, produciendo una disminución de la presión arterial y un aumento de la frecuencia cardíaca y del gasto cardíaco, cambios todos ellos ligeros

(Jones y col, 1979; Samuelson y col, 1981). Este hecho, junto con la concentración de anestésico inhalatorio (1CAM), la cual es todavía insuficiente para dar lugar a una disminución evidente de la presión arterial, pueden explicar la normotensión observada en el presente estudio en los grupos de animales anteriormente citados.

Se ha descrito una afectación mínima de la ventilación por parte de la dexmedetomidina a diferentes concentraciones plasmáticas (Bol y col, 1997 y 1999), sin embargo, tanto el midazolam como los anestésicos inhalatorios deprimen la respiración de manera dosis-dependiente, disminuyendo la respuesta ventilatoria al CO₂, lo que indica que esta depresión es debida a la depresión directa del SNC (Forster y col, 1980; Reves y col, 1985; Steffey, 1996). El midazolam afecta mínimamente a la ventilación a concentraciones plasmáticas comprendidas entre 2,5 - 20 µg/ml en ratas, dado que los valores de los parámetros PaO₂, PaCO₂, porcentaje de saturación de la hemoglobina y pH a esas concentraciones de fármaco presentan alteraciones mínimas (Bol y col, 2000). Los valores de los parámetros PaO₂, PaCO₂ y pH en nuestro estudio no fueron diferentes de una manera significativa entre los 8 grupos de estudio. La frecuencia respiratoria, sin embargo, fue superior en todos los grupos de halotano en comparación con los de isoflurano, aunque esta diferencia sólo fue estadísticamente significativa entre los grupos a los que se administró midazolam de forma única. También se observó en el presente estudio que los dos grupos de halotano a los que se administró dexmedetomidina, sola o en combinación, tuvieron una disminución de la FR con respecto al grupo control, lo cual es atribuible al agente agonista de los receptores adrenérgicos α_2 o bien a un efecto sinérgico entre la dexmedetomidina y el halotano en la depresión de la respiración. Se ha descrito que el isoflurano es más depresor de la ventilación que el halotano a dosis superiores a 1CAM (Fourcade y col, 1971; Eger, 1984); sin embargo, a dosis de 1CAM ambos agentes afectan mínimamente a la respiración, provocando un aumento de la PaCO₂ por encima de los 45 mmHg, pero sin superar los 50 mmHg (Eger, 1984). Puesto que no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los grupos en los parámetros PaO₂, PaCO₂ y pH, y dado que la FR es un parámetro menos objetivo de evaluación de la eficacia de la ventilación, consideramos que nuestros resultados no están en desacuerdo con anteriores estudios.

Se ha descrito que la dexmedetomidina reduce la temperatura corporal de forma dosis-dependiente en ratas (MacDonald y col, 1991). Esta propiedad de reducir la temperatura corporal es común a todos los fármacos anestésicos que sean capaces de deprimir los centros de la termorregulación preóptico e hipotalámico. En concreto, el sistema nervioso adrenérgico central, y principalmente los receptores adrenérgicos α_2 ,

poseen un importante papel fisiológico de regulación de la temperatura corporal (Vainio y Bloor, 1994). Los agentes agonistas de los receptores adrenérgicos α_2 , como es el caso de la dexmedetomidina, amortiguan la termogénesis metabólica que tiene lugar, principalmente, en el tejido adiposo marrón, el cual se encuentra inervado por el sistema nervioso simpático (Vainio y Bloor, 1994). Además, la pérdida de temperatura corporal a través de la piel, como consecuencia de la vasodilatación que producen los agentes anestésicos, es más marcada en los animales de pequeño tamaño, como es el caso de las ratas, puesto que presentan una gran superficie corporal en relación con su peso.

Tanto la hipertermia como la hipotermia afectan a los requerimientos anestésicos, en concreto la hipotermia reduce estos requerimientos además de disminuir la respuesta respiratoria frente a la hipercapnia y a la hipoxia (Regan y Eger, 1967). En perros anestesiados halotano, se comprobó que una reducción de 10°C en la temperatura corporal disminuía la CAM de halotano en un 53,2% (Regan y Eger, 1967). Por ello, consideramos muy importante para la realización del presente estudio que se mantuviera una temperatura corporal dentro de los límites fisiológicos de esta especie. Para lograrlo, se utilizó un sistema de calentamiento por medio de aire seco caliente. Este sistema de calentamiento se mantuvo durante todo el tiempo que duró el proceso experimental en todos los animales, puesto que, en el momento que se retiraba, la temperatura corporal de las ratas comenzaba a descender.

Es muy importante en todos los estudios de determinación de la CAM el mantenimiento de una presión arterial media > 50 mmHg, una $\text{PaO}_2 > 40$ mmHg, una PaCO_2 entre 15 - 95 mmHg y una normotermia, ya que se ha descrito que todos estos parámetros, cuando están alterados, pueden afectar a la CAM. En el caso de la hipertermia se aumenta la CAM, y en el caso de la hipotermia, la hipotensión (< 50 mmHg), la hipoxia (< 40 mmHg) y la hipercapnia (> 95 mmHg) la CAM disminuye (Quasha y col, 1980; Cullen, 1986; Steffey, 1996). En el presente estudio todos estos parámetros fueron monitorizados continuamente en todos los animales para asegurarnos que sus valores estaban dentro de los límites que no afectan a la CAM.

La acidosis metabólica reduce la CAM de los anestésicos inhalatorios cuando el pH disminuye por debajo de 7,0 (Quasha y col, 1980), sin embargo, ligeras variaciones del pH no afectan a la CAM (Quasha y col, 1980; Cullen, 1986; Steffey, 1996). En el presente estudio se determinó el pH de la sangre arterial en todas las ratas en el momento de determinación de la CAM. En algunos grupos el valor medio de pH obtenido fue inferior a 7,3, sin embargo, las diferencias respecto a los otros grupos de animales no fueron estadísticamente significativas, por lo que consideramos que la ligera acidosis metabólica

que presentaron algunos de los animales no alteró los valores de la CAM ni a los demás resultados de este estudio.

La CAM_{HAL} y la CAM_{ISO} obtenidas en nuestro estudio fueron 1,42 y 1,59 respectivamente. En estudios anteriores de determinación de la CAM, realizados por diferentes autores, se obtuvieron valores ligeramente inferiores para ambos anestésicos inhalatorios en la rata (Quasha y col, 1980; Steffey 1996; Steffey 2001). Una de las posibles causas de esta discordancia, es la diferencia de altitud entre los lugares de realización del estudio por la influencia de la presión barométrica en las presiones parciales de los anestésicos inhalatorios. En consecuencia, para poder comparar los estudios de CAM, normalmente se habla de la CAM corregida a la presión barométrica de 1 atmósfera a nivel del mar, o lo que es lo mismo, a la presión atmosférica de 760 mmHg. Por tanto, CAM_{HAL} y la CAM_{ISO} corregidas fueron 1,31 y 1,46 respectivamente, que son unos valores más cercanos a los obtenidos por otros autores. Es posible que el resultado del análisis del gas tele-espriatorio sobreestime ligeramente la verdadera concentración alveolar a causa de la cantidad de gas aspirado por el analizador de gases (60 ml/min); sin embargo, este hecho no debe afectar a las conclusiones del estudio puesto que todos los grupos de animales estaban sometidos a las mismas condiciones (Santos y col, 2004). Otras posibles causas de esta diferencia en los valores de CAM obtenidos, entre el presente estudio y otros anteriores, podrían ser la estirpe de ratas utilizada, la edad y el tipo de estímulo utilizado. Sin embargo, los objetivos del presente trabajo consistían en realizar comparaciones entre los grupos de animales estudiados y obtener los porcentajes de reducción de la CAM de ambos agentes inhalatorios, no realizándose ninguna comparación de nuestros resultados con los valores de CAM obtenidos en estudios anteriores.

Se ha descrito con anterioridad que la dexmedetomidina tiene capacidad de reducir la CAM de diversos agentes inhalatorios, entre los que se encuentran el halotano y el isoflurano. Kagawa y col (1997) realizaron un estudio en ratas en el que observaron una disminución dosis-dependiente de la CAM_{HAL} tras la administración de dexmedetomidina por vía intraperitoneal (IP), siendo el porcentaje máximo de reducción de un 42,9%, que se correspondía con la mayor dosis administrada de 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Sin embargo, Segal y col (1989) comprobaron que una dosis de dexmedetomidina de 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ por vía IP reducía en aproximadamente un 63% la CAM_{HAL} y que una dosis de 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ IP permitía desconectar el vaporizador de halotano durante 30 min, sin que las ratas respondieran ante un estímulo doloroso supramáximo. En otro estudio realizado por Savola y col (1991a) se observó que la dexmedetomidina administrada por vía IP en ratas también

reducía la CAM_{ISO} de manera dosis-dependiente, reduciéndose en aproximadamente un 58% con una dosis de 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$, llegándose hasta un 90% de reducción con la dosis máxima utilizada de 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$. En nuestro estudio, en los grupos de ratas en las que se administró de manera única la infusión intravenosa de 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ de dexmedetomidina, obtuvimos un porcentaje de reducción de la CAM_{HAL} de un 72% y un porcentaje de reducción de la CAM_{ISO} de un 43%. Estas diferencias entre nuestro estudio y los anteriormente citados en los porcentajes de reducción de la CAM de ambos agentes inhalatorios probablemente sean debidas a la presencia de distintos niveles plasmáticos de dexmedetomidina en el momento de la determinación de la CAM, como consecuencia de la utilización de diferentes dosis y vías de administración. Nuestros resultados están en concordancia con lo obtenido por Segal y col (1989) y Savola y col (1991a) en lo relativo a que la dexmedetomidina reduce en mayor medida la CAM_{HAL} que la CAM_{ISO} , aunque los porcentajes de reducción no coinciden de forma exacta. Sin embargo, el porcentaje de reducción de la CAM_{HAL} obtenido por Kagawa y col (1997) es menor que el obtenido por Segal y col (1989) a igualdad de dosis de dexmedetomidina y vías de administración utilizadas, siendo menor también que el porcentaje de reducción de la CAM_{ISO} obtenido por Savola y col (1991a) utilizando la misma dosis y vía de administración.

El midazolam también reduce la CAM de diversos anestésicos inhalatorios de forma dosis-dependiente, pero existe un efecto “techo” a partir del cual no existe una mayor reducción de la CAM (Hall y col, 1988). Greiner y Larach (1989) determinaron el porcentaje de reducción de la CAM_{HAL} producido por la administración de una dosis de 1 mg/kg de midazolam por vía intraarterial en ratas, siendo éste de un 37% a los 30 min y de un 33% a los 60 min post-administración. Schwieger y col (1994) observaron que el midazolam administrado por vía intratecal en ratas reducía dosis-dependientemente la CAM_{ISO} , siendo el mayor porcentaje de reducción del 53% a la dosis más alta utilizada. En nuestro estudio, el midazolam administrado de forma única dio lugar a un porcentaje de reducción de la CAM_{HAL} del 26% y de la CAM_{ISO} del 20%. Comparativamente con el estudio de Greiner y Larach (1989), en lo referente a la CAM_{HAL} , en el presente estudio se obtuvo un menor porcentaje de reducción. Esta pequeña discordancia podría ser atribuida a la diferente vía de administración utilizada en ambos estudios ó a las diferencias de metodología utilizada para la determinación de la CAM, como por ejemplo el tiempo de espera para que se equilibraran las concentraciones de anestésico entre los alvéolos, la sangre arterial y el SNC, que en el estudio de Greiner y Larach (1989) fue de tan solo 8 min. En lo que se refiere a la CAM_{ISO} , no se pueden comparar los resultados

obtenidos por Schwieger y col (1994) con los del presente estudio, por las diferentes dosis y vías de administración utilizadas. Como ya se ha indicado anteriormente, el porcentaje de reducción de la CAM depende de la dosis de midazolam administrada y de su concentración en la médula espinal. Al ser administrado el midazolam por vía intratecal en el estudio de Schwieger y col (1994), la concentración espinal del mismo seguramente fue mayor que la que se alcanzó en el presente estudio, lo que podría explicar la diferencia existente en los porcentajes de reducción de la CAM_{ISO} entre ambos estudios.

En el presente estudio se observa que a igualdad de dosis y vía de administración, la dexmedetomidina es capaz de reducir en mayor proporción la CAM de halotano que la CAM de isoflurano, lo cual indica que existe una mayor interacción farmacológica positiva entre este fármaco agonista de los receptores adrenérgicos α_2 y el halotano. Estas diferencias en los porcentajes de reducción de la CAM entre ambos agentes inhalatorios también se observa en el caso del midazolam, no siendo estadísticamente significativas, lo cual indica que esta benzodiazepina interacciona de forma similar con el halotano y el isoflurano.

Las interacciones de tipo farmacocinético suelen ocurrir entre dos o más agentes anestésicos cuando se administran de forma concomitante, ya que se pueden ver modificadas las concentraciones de los mismos a nivel del receptor donde ejercen su acción, alterándose por tanto sus efectos. Se ha descrito que los anestésicos inhalatorios, principalmente el halotano, pueden alterar la tasa de absorción y el aclaramiento plasmático de determinados fármacos cuando se administran por vía oral o intramuscular (White y col, 1976; Wood, 1991). Por ello, para evitar esta variabilidad en las concentraciones plasmáticas de los fármacos administrados durante el periodo anestésico, se recomienda la utilización de la vía intravenosa (Wood, 1991). También se puede alterar la distribución de los fármacos en el organismo mediante la alteración de la distribución del flujo sanguíneo. Todos los anestésicos inhalatorios disminuyen el gasto cardíaco y, por tanto, el flujo de sangre que reciben los riñones (Hartman y col, 1992) y el hígado se reduce significativamente, lo que ocurre de una manera mucho más marcada en el caso del halotano (Hursh y col, 1987). Esta disminución del flujo sanguíneo hepático puede alterar la tasa de aclaramiento de los fármacos que se hayan administrado previamente o durante el periodo intraanestésico. Por otro lado, los agentes inhalatorios, y en mayor medida el halotano que el isoflurano, aumentan el flujo sanguíneo del SNC (Drummond y col, 1986), que es el órgano diana de los fármacos anestésicos. Además, se ha visto que el halotano, el isoflurano y el ácido trifluoroacético desplazan ciertos fármacos de su unión a las proteínas plasmáticas *in vitro*, pudiendo aumentar la fracción

libre de los mismos (Dale y Nilsen, 1984; Dale y Jenssen, 1986). Por último, se ha descrito los anestésicos inhalatorios inhiben el metabolismo de una gran cantidad de fármacos cuya principal ruta de eliminación es la oxidación por parte del sistema microsomal hepático (Wood, 1991), como por ejemplo las benzodiazepinas. La disminución de la tasa de aclaramiento plasmático, junto con el aumento del flujo sanguíneo cerebral, el posible desplazamiento de la unión a las proteínas plasmáticas y la inhibición de la ruta oxidativa del metabolismo hepático de ciertos fármacos, todo ello producido por los anestésicos inhalatorios, hace que se pueda incrementar el tiempo de duración y la intensidad de los efectos de otros fármacos anestésicos cuando son administrados en personas o en animales sometidos a una anestesia general inhalatoria. Este tipo de interacciones farmacocinéticas podrían explicar el hecho de que la CAM de halotano permaneciera prácticamente invariable durante la primera hora post-administración intraarterial de midazolam en el estudio realizado por Greiner y Larach (1989), lo cual probablemente se deba a que la vida media terminal del midazolam aumenta en los animales anestesiados con un agente inhalatorio.

El hecho de que la dexmedetomidina reduzca en mayor proporción la CAM_{HAL} que la CAM_{ISO} , podría deberse en parte a una interacción farmacocinética entre el halotano y este fármaco, puesto que el halotano, como ya se indicó anteriormente, reduce en mayor medida el flujo sanguíneo hepático y aumenta en mayor grado el flujo sanguíneo cerebral que el isoflurano. Sin embargo, esa diferencia en el porcentaje de reducción de la CAM de ambos agentes inhalatorios producida por la dexmedetomidina, es demasiado grande para que pueda ser explicada únicamente por la alteración del flujo sanguíneo. Además, si la causa de esta diferencia fuera la mayor reducción del flujo sanguíneo hepático provocada por el halotano, debería producirse en similares proporciones en el caso del midazolam al tratarse de un fármaco con biotransformación hepática, sin embargo, esta diferencia es mucho menor. Este hecho indica que las diferencias existentes entre el halotano y el isoflurano, en cuanto a su capacidad de reducir el flujo sanguíneo hepático y de aumentar el flujo sanguíneo cerebral, no explicarían la gran interacción existente entre el halotano y la dexmedetomidina, por lo que posiblemente se trate de una interacción de tipo farmacodinámico.

La hipnosis producida por la dexmedetomidina se debe al agonismo de los receptores adrenérgicos α_2 situados en el LC, lo que disminuye la actividad simpática e inhibe la liberación de noradrenalina (De Sarro y col, 1987; Correa-Sales y col, 1992). El efecto antinociceptivo de la dexmedetomidina está asociado, principalmente, a su acción a nivel de la médula espinal, donde se ha encontrado una gran densidad de receptores adrenérgicos α_2 en la sustancia gelatinosa, la cual está localizada en el asta dorsal, que

es el lugar donde se modula la transmisión nociceptiva a través de numerosas sustancias biológicamente activas, entre las que se encuentran la noradrenalina, la serotonina, las endorfinas, etc... (Fürst, 1999). La analgesia espinal producida por la dexmedetomidina se ha demostrado que se debe a la inhibición de las respuestas evocadas de las fibras nociceptivas tipo C del asta dorsal ante estímulos nociceptivos, aunque también existe inhibición de respuestas no nociceptivas (Sullivan y col, 1992) y de potenciales lentos del asta ventral de la médula espinal (Kendig y col, 1991). Una parte importante del efecto analgésico que produce la dexmedetomidina está también mediado por la activación de los receptores adrenérgicos α_2 del LC (Guo y col, 1996). Se ha comprobado que la capacidad de la dexmedetomidina de reducir la CAM de los anestésicos inhalatorios está mediada por la activación de los receptores adrenérgicos α_2 , sin que exista participación de otro tipo de receptores (Segal y col 1988; Kagawa y col, 1997). En este efecto reductor de la CAM participan los receptores adrenérgicos α_2 tanto pre- como post-sinápticos (Segal y col, 1988 y 1989). La supresión de la neurotransmisión nociceptiva espinal se cree que puede ser una de las principales causas de la reducción de la CAM que produce la dexmedetomidina (Savola y col, 1991b; Kagawa y col, 1997).

La capacidad de los anestésicos inhalatorios de producir inmovilidad ante un estímulo doloroso supramáximo se debe, principalmente, a sus acciones a nivel de la médula espinal, existiendo tan solo una pequeña participación supra-espinal en esta inmovilidad (Sonner y col, 2003). Estudios electrofisiológicos de la médula espinal *in vivo* demostraron que estos agentes son capaces de suprimir tanto la actividad neuronal sensorial como motora, sin embargo, es la supresión de la excitabilidad motora espinal la principal responsable de la inmovilidad producida ante un estímulo doloroso (Rampil y King, 1996; Zhou y col, 1998; Jinks y col, 2003). Se conocen tan solo parcialmente los receptores que participan en la producción de este efecto por parte de los anestésicos inhalatorios. Se cree que los principales responsables que dan lugar a la inmovilidad, y por tanto, a la CAM, son los receptores glicinérgicos, los NMDA y los canales de sodio, no interviniendo otro tipo de receptores como los adrenérgicos α_2 ni los GABA_A (Sonner y col, 2003). En el efecto inmovilizante del halotano se ha visto que interviene, en gran medida, la depresión de la transmisión nociceptiva a nivel del asta dorsal, aunque posiblemente también intervenga el procesamiento neuronal a nivel del asta ventral de la médula espinal (Jinks y col, 2003). El isoflurano, sin embargo, no deprime la actividad neuronal en el asta dorsal a concentraciones cercanas a 1CAM, sino tan solo a concentraciones por debajo de 1CAM (Jinks y col, 2003). Por tanto, en la acción inmovilizante del isoflurano no participa la transmisión nociceptiva, que tiene lugar a nivel

del asta dorsal, sino únicamente la depresión motora a nivel del asta ventral de la médula espinal (Jinks y col, 2003).

La depresión que producen, tanto la dexmedetomidina como el halotano, de la transmisión nociceptiva a nivel del asta dorsal de la médula espinal, podría explicar la mayor interacción existente entre estos dos agentes, en términos de reducción de la CAM, que la que tiene lugar entre la dexmedetomidina y el isoflurano. Esta hipótesis está respaldada también por los resultados de un estudio realizado por Shimode y col (2003) en ratas, en el que midieron la expresión de la proteína Fos en el asta dorsal de la médula espinal, que es un marcador de la estimulación nociceptiva recibida por la misma procedente de los tejidos periféricos. Estos autores encontraron que la dexmedetomidina, administrada por vía intratecal de forma única, disminuía de forma significativa la expresión de la proteína Fos en las capas superficiales del asta dorsal, después de la incisión de una almohadilla plantar. Por otro lado, el halotano por sí solo suprimía completamente la expresión de esta proteína en las capas más profundas del asta dorsal. Sin embargo, la combinación de halotano (0,5 - 1,0%) con dexmedetomidina (1 - 3 μ g), suprimía completamente la expresión de la proteína Fos tanto en las capas superficiales como en las capas profundas del asta dorsal de la médula espinal, después de la aplicación del estímulo doloroso, lo que indica una ausencia de estimulación nociceptiva espinal cuando se combinan ambos agentes.

El midazolam da lugar a analgesia, cuando es administrado por vía intratecal, al producir un incremento de la transmisión GABAérgica inhibitoria, cuando se une a los receptores GABA_A sensibles a las benzodiazepinas localizados en la sustancia gelatinosa del asta dorsal de la médula espinal (Kohno y col, 2000). La mayor densidad de receptores GABA_A sensibles a las benzodiazepinas se ha encontrado en las capas superficiales de la médula espinal, especialmente en la sustancia gelatinosa (Bohlhalter y col, 1996). Sin embargo, se ha observado que el midazolam administrado por vía intracerebroventricular o sistémica, produce hiperalgesia debido a su acción en centros supraespinales (Niv y col, 1988). Por tanto, la capacidad que posee el midazolam de reducir la CAM, cuando es administrado por vía sistémica, probablemente se deba a su efecto sedante, ya que por esta vía de administración la producción de analgesia es controvertida. Este hecho apunta a que la pequeña diferencia observada en el presente estudio entre los porcentajes de reducción de la CAM_{HAL} y de la CAM_{ISO} cuando se administra midazolam de forma única, probablemente se deba a una mayor interacción de tipo farmacocinético de este fármaco con el halotano que con el isoflurano, y no a una interacción farmacodinámica entre ellos. Sin embargo, Taira y col (2000) observaron que el midazolam administrado tanto por vía intracerebroventricular como intratecal

incrementaba la analgesia moderada producida por el isoflurano en ratas, cuando las concentraciones del agente inhalatorio eran de 1,2% - 1,3%, no afectando, sin embargo, a la capacidad antinociceptiva mínima que posee el isoflurano a concentraciones de 1,1%. Este mismo estudio no se ha realizado administrando midazolam por vía sistémica ni tampoco con el halotano, por lo que no sabemos si el midazolam también es capaz de incrementar el efecto antinociceptivo producido por los agentes inhalatorios cuando se administra por vía intravenosa ni si afecta a la analgesia producida por el halotano de la misma manera que lo hace con el isoflurano. Es posible, en base al estudio de Taira y col (2000), que al menos una parte de la capacidad de reducción de la CAM de los anestésicos inhalatorios que posee el midazolam administrado por vía intravenosa, se deba a su capacidad de incrementar la analgesia producida por estos últimos. Por tanto, otra posible explicación de la pequeña diferencia encontrada entre los porcentajes de reducción de la CAM_{HAL} y de la CAM_{ISO} en el presente estudio, sea que el midazolam incremente en mayor medida la capacidad analgésica del halotano al actuar ambos en el asta dorsal de la médula espinal. Sin embargo, puesto que tal diferencia entre los porcentajes de reducción de la CAM de ambos agentes inhalatorios no es estadísticamente significativa, es posible que la interacción del midazolam con el halotano y el isoflurano sea similar. En cuanto al responsable molecular de la capacidad de reducción de la CAM que posee el midazolam, se ha demostrado que es el receptor benzodiazepínico, el cual se encuentra dentro del complejo macromolecular que constituye el receptor GABA_A (Greiner y Larach, 1989).

Uno de los objetivos del presente estudio consistía en determinar el tipo de interacción farmacodinámica existente entre la dexmedetomidina y el midazolam, en función de la reducción de la CAM de halotano y de isoflurano producida cuando son administrados por separado y en combinación. Estudios previos han determinado el tipo de interacción existente entre estos dos fármacos para la producción del efecto hipnótico y analgésico mediante la utilización de otro tipo de estímulos. Salonen y col (1992) estudiaron el tipo de interacción farmacológica que tiene lugar entre la dexmedetomidina y el midazolam, en ratas no anestesiadas, y determinaron que existía un sinergismo de tipo farmacodinámico en el efecto hipnótico producido. Además, observaron que ninguno de estos fármacos alteraba la concentración plasmática del otro, y que tampoco se alteraba la afinidad de ninguno de estos fármacos por sus respectivos receptores, por lo que se descarta que exista una interacción farmacocinética entre ellos. En otro estudio se observó la existencia de un sinergismo entre la clonidina, otro agente agonista de los receptores adrenérgicos α_2 , y el midazolam en la analgesia mediada a nivel espinal (Nishiyama y Hanaoka, 2001). Por otro lado, Bol y col (2000) cuantificaron el grado de

interacción farmacodinámica que existe entre la dexmedetomidina y el midazolam, en ratas no anestesiadas, a distintas concentraciones plasmáticas de estos fármacos y para diferentes niveles de depresión del SNC. Estos autores encontraron que existía un claro sinergismo entre estos dos agentes, el cual se incrementaba a medida que el grado de depresión del SNC era mayor. También observaron que al combinar ambos fármacos, se producía un intenso efecto analgésico y una profunda depresión del SNC a concentraciones plasmáticas que sólo producen sedación cuando son administrados por separado.

Cuando dos fármacos poseen el mismo mecanismo de acción, el grado de interacción farmacodinámica entre ellos es menos efectiva que cuando éste es completamente diferente, por tanto, se puede deducir que el grado de sinergismo existente entre dos agentes anestésicos está relacionado con el grado de disparidad entre sus rutas de transducción de las señales (Bol y col, 2000). Las interacciones de tipo sinérgico pueden ocurrir cuando los fármacos afectan a diferentes puntos críticos en la misma ruta de producción de un efecto (Nishiyama y Hanaoka, 2001). La profunda interacción observada en estudios previos, así como en el presente, entre la dexmedetomidina y el midazolam, puede ser debida a la diferencia que existe entre sus rutas de transducción de las señales, y a que sin embargo, comparten muchos de sus efectos farmacológicos derivados de la depresión de centros nerviosos superiores, que da lugar al efecto sedante, y de la depresión de la transmisión nociceptiva a nivel del asta dorsal de la médula espinal, que da lugar al efecto analgésico.

En base a los resultados del presente estudio, la interacción farmacológica existente entre la dexmedetomidina y el midazolam, en función de los porcentajes de reducción de la CAM_{HAL} y de la CAM_{ISO} obtenidos, se puede describir como aditiva cuando se combinan con el halotano y de tipo sinérgico cuando se trata del isoflurano. El sinergismo encontrado entre estos dos fármacos, cuando las ratas estaban sometidas a anestesia inhalatoria con isoflurano, está en concordancia con los estudios citados anteriormente. Sin embargo, la interacción que se encontró cuando las ratas estaban anestesiadas con halotano no concuerda con los resultados de esos estudios. En el presente estudio se observó un efecto aditivo y no sinérgico entre la dexmedetomidina y el midazolam en términos del porcentaje de reducción de la CAM_{HAL} al obtenerse una reducción de la misma, cuando se administran estos dos fármacos conjuntamente de un 90%, siendo el esperado al sumar los respectivos porcentajes de reducción cuando se administran estos dos fármacos por separado de un 98%. Aunque el porcentaje de reducción esperado es mayor al obtenido en un 8%, esta interacción se puede calificar como aditiva, y no como antagonista, al ser el porcentaje de reducción cuando se administran en conjunto la

dexmedetomidina y el midazolam mayor al obtenido por cada fármaco por separado. Es decir, la capacidad de reducir los requerimientos anestésicos de halotano cuando se administran la dexmedetomidina y el midazolam conjuntamente es mayor que cuando se administran independientemente, sin embargo, no se sobrepasa el porcentaje de reducción esperado, por lo que la interacción es aditiva y no sinérgica. La diferente interacción que tiene lugar entre estos agentes cuando se trata de uno u otro anestésico inhalatorio también se puede deducir a partir del estudio estadístico realizado, ya que se observa que la diferencia entre los porcentajes de reducción de la CAM_{HAL} cuando se administra dexmedetomidina sola y en combinación con el midazolam no es estadísticamente significativa, mientras que sí lo es en el caso de los porcentajes de reducción de la CAM_{ISO} .

Una de las posibles explicaciones de esta discordancia entre el tipo de interacción que tiene lugar cuando se utiliza uno u otro agente inhalatorio, es que la reducción de la CAM_{HAL} era tan grande al administrar dexmedetomidina y midazolam conjuntamente, que se reducían las concentraciones tele-espiratorias de halotano hasta valores de 0,1%-0,2%, no pudiendo reducirse tales concentraciones en mayor proporción puesto que los animales se despertaban. Segal y col (1989) podían desconectar el vaporizador de halotano durante 30 min cuando administraban una dosis de 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de dexmedetomidina por vía intraperitoneal. Sin embargo, con la infusión de 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ de dexmedetomidina utilizada en el presente estudio no se pudo desconectar el vaporizador porque las ratas comenzaban a moverse sin que se hubiera aplicado el estímulo doloroso supramáximo. En todos los animales del presente estudio se realizó una incisión en la piel del cuello para cateterizar la arteria carótida, lo que constituye un estímulo doloroso continuo durante todo el proceso de determinación de la CAM. Es posible que este estímulo continuo no permitiera desconectar el vaporizador de halotano por carecer los animales de un grado de hipnosis suficiente. La ausencia de visualización de sinergismo entre la dexmedetomidina y el midazolam cuando se administraban en animales anestesiados con halotano podría deberse, por tanto, a la imposibilidad de reducir más la concentración de este agente inhalatorio. Es posible que administrando una dosis dexmedetomidina superior a la que se utilizó en el presente estudio pueda llegarse a cerrar el vaporizador, tal como hicieron Segal y col (1989). Sin embargo, consideramos que la gran afectación del sistema cardiovascular producida por este fármaco a mayores dosis podría alterar el valor real de la CAM (Quasha y col, 1980; Cullen, 1986; Steffey, 1996). Otra posible causa de la ausencia de sinergismo entre estos dos fármacos, en las ratas anestesiadas con halotano, es que se ha visto que los anestésicos inhalatorios son hiperalgésicos a concentraciones tele-espiratorias de

0,1CAM (Zhang y col, 2000), por tanto, puede que el propio halotano ejerciera un cierto antagonismo sobre la interacción farmacodinámica que existe entre la dexmedetomidina y el midazolam.

Tradicionalmente se ha pensado el halotano y el isoflurano ejercen acciones similares sobre diversos receptores y canales iónicos, sin embargo, recientemente se ha observado que estos dos agentes inhalatorios producen diferentes efectos a nivel de ciertos receptores (Ej. GABA y glutamato) y canales iónicos (Ej. canales de potasio) (Greenblatt y Meng, 2001; Kwok y col, 2002). Se ha demostrado que ni los receptores adrenérgicos α_2 ni los GABA_A median directamente la inmovilidad producida por el isoflurano, por tanto, no son mediadores directos de la CAM de este agente, ni probablemente lo sean del resto de los anestésicos inhalatorios (Sonner y col, 2003). Sin embargo, es posible que sí intervengan de manera indirecta, aunque este tipo de mediación aún está por determinar. El presente estudio muestra una clara diferencia de interacción de la dexmedetomidina, sola y en combinación con el midazolam, con el halotano y con el isoflurano, en la cual puede que estén interviniendo los receptores adrenérgicos α_2 y/o los GABA_A. Sin embargo, con los resultados obtenidos y en las condiciones de realización de este estudio no es posible determinar el papel que juega uno u otro tipo de receptor en la mediación de la interacción observada entre los fármacos estudiados.

7. CONCLUSIONES

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

1. La dexmedetomidina administrada en infusión intravenosa continua a dosis de 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ de forma única en ratas Wistar reduce en mayor medida los requerimientos anestésicos de halotano que los de isoflurano.
2. El midazolam administrado en bolo intravenoso a dosis de 1 mg/kg de forma única en ratas Wistar reduce en proporciones similares los requerimientos anestésicos de halotano y de isoflurano.
3. La dexmedetomidina y el midazolam administrados de forma conjunta en ratas Wistar presentan una interacción farmacológica de tipo aditivo en términos del porcentaje de reducción de la CAM de halotano.
4. La dexmedetomidina y el midazolam administrados de forma conjunta en ratas Wistar presentan una interacción farmacológica de tipo sinérgico en términos del porcentaje de reducción de la CAM de isoflurano.
5. La administración de dexmedetomidina en infusión intravenosa continua a dosis de 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ de forma única y en combinación con midazolam administrado en bolo intravenoso a dosis de 1 mg/kg en ratas Wistar incrementa la depresión del sistema cardiovascular cuando se utiliza halotano o isoflurano a concentraciones de 1CAM.
6. La administración de dexmedetomidina en infusión intravenosa continua a dosis de 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ de forma única y en combinación con midazolam administrado en bolo intravenoso a dosis de 1 mg/kg en ratas Wistar no incrementa la depresión del sistema respiratorio cuando se utiliza halotano o isoflurano a concentraciones de 1CAM.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Aantaa R, Jaakola ML, Kallio A, Kanto J. Reduction of the minimum alveolar concentration of isoflurane by dexmedetomidine. *Anesthesiology* 1997;86(5):1055-1060.
- Ahlquist RP. A study of the adrenotropic receptors. *Am J Physiol* 1948;153:586-600.
- Ali SZ, Taguchi A, Rosenberg H. Malignant hyperthermia. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2003;17(4):519-533.
- Antognini JF, Carstens E. Macroscopic sites of anesthetic action: brain versus spinal cord. *Toxicol Lett* 1998;100-101:51-58.
- Antognini JF, Schwartz K. Exaggerated anesthetic requirements in the preferentially anesthetized brain. *Anesthesiology* 1993;79(6):1244-1249.
- Arbilla S, Allen J, Wick A, Langer SZ. High affinity [3H] zolpidem binding in the rat brain: an imidazopyridine with agonist properties at central benzodiazepine receptors. *Eur J Pharmacol* 1986;130(3):257-263.
- Arendt RM, Greenblatt DJ, deJong RH, Bonin JD, Abernethy DR, Ehrenberg BL, GilesHG, Sellers EM, Shader RI. In vitro correlates of benzodiazepine cerebrospinal fluid uptake, pharmacodynamic action and peripheral distribution. *J Pharmacol Exp Ther* 1983;227(1):98-106.
- Arendt RM, Greenblatt DJ, Liebisch DC, Luu MD, Paul SM. Determinants of benzodiazepine brain uptake: lipophilicity versus binding affinity. *Psychopharmacology (Berl)* 1987;93(1):72-76.
- Asai T, Mapleson WW, Power I. Differential effects of clonidine and dexmedetomidine on gastric emptying and gastrointestinal transit in the rat. *Br J Anaesth* 1997;78(3):301-307.

- Aune H, Bessesen A, Olsen H, Morland J. Acute effects of halothane and enflurane on drug metabolism and protein synthesis in isolated rat hepatocytes. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 1983;53(5):363-368.
- Backus KH, Arigoni M, Drescher U, Scheurer L, Malherbe P, Mohler H, Benson JA. Stoichiometry of a recombinant GABAA receptor deduced from mutation-induced rectification. *Neuroreport* 1993;5(3):285-288.
- Baden JM, Rice SA. Metabolism and toxicity. En *Anesthesia*. Ed. R.D. Miller, 4ª edición. Churchill Livingstone, New York 1994:157-183.
- Belleville JP, Ward DS, Bloor BC, Maze M. Effects of intravenous dexmedetomidine in humans. I. Sedation, ventilation, and metabolic rate. *Anesthesiology* 1992;77(6):1125-1133.
- Benke D, Fritschy JM, Trzeciak A, Bannwarth W, Mohler H. Distribution, prevalence, and drug binding profile of gamma-aminobutyric acid type A receptor subtypes differing in the beta-subunit variant. *J Biol Chem* 1994;269(43):27100-27107.
- Bernard JM, Doursout MF, Wouters P, Hartley CJ, Cohen M, Merin RG, Chelly JE. Effects of enflurane and isoflurane on hepatic and renal circulations in chronically instrumented dogs. *Anesthesiology* 1991;74(2):298-302.
- Berthelson S, Pettinger WA. A functional basis for classification of alpha-adrenergic receptors. *Life Sci* 1977;21:595-606.
- Bloom FE, Iversen LL. Localizing 3H-GABA in nerve terminals of rat cerebral cortex by electron microscopic autoradiography. *Nature* 1971;229(5287):628-630.
- Bohlhalter S, Weinmann O, Mohler H, Fritschy J-M. Laminar compartmentalization of GABA_A-receptor subtypes in the spinal cord: An immunohistochemical study. *J Neurosci* 1996;16:283-297.
- Bol CJJG, Danhof M, Stanski DR, Mandema JW. Pharmacokinetic-pharmacodynamic characterization of the cardiovascular, hypnotic, EEG and ventilatory responses to dexmedetomidine in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;283(3):1051-1058.
- Bol CJJG, Vogelaar JPW, Mandema JW. Anesthetic profile of dexmedetomidine identified by stimulus-response and continuous measurements in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;291(1):153-160.
- Bol CJJG, Vogelaar JPW, Tang JP, Mandema JW. Quantification of pharmacodynamic interactions between dexmedetomidina and midazolam in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 2000;294(1):347-355.
- Breimer LT, Hennis PJ, Burm AG, Danhof M, Bovill JG, Spierdijk J, Vletter AA. Quantification of the EEG effect of midazolam by a periodic analysis in volunteers.

- Pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling. *Clin Pharmacokinet* 1990;18(3):245-253.
- Buch U, Altmayer P, Isenberg JC, Buch HP. Increase of thiopental concentration in tissues of the rat due to an anesthesia with halothane. *Arzneimittelforschung* 1991;41(4):363-366.
- Buhrer M, Mappes A, Lauber R, Stanski DR, Maitre PO. Dexmedetomidine decreases thiopental dose requirement and alters distribution pharmacokinetics. *Anesthesiology* 1994;80(6):1216-1227.
- Bylund DB, Blaxall HS, Iversen LJ, Caron MG, Lefkowitz RJ, Lomasney JW. Pharmacological characteristics of alpha 2-adrenergic receptors: comparison of pharmacologically defined subtypes with subtypes identified by molecular cloning. *Mol Pharmacol* 1992;42(1):1-5.
- Bylund DB, U'Prichard DC. Characterization of alpha-1 and alpha-2 adrenergic receptors. *Int Rev Neurobiol* 1983;24:343-431.
- Bylund DB. Heterogenicity of alpha-2 adrenergic receptors. *Pharmacol Biochem Behav* 1985;22:835-843.
- Cahalan MK, Johnson BH, Edger EI 2nd. Relationship of concentrations of halothane and enflurane to their metabolism and elimination in man. *Anesthesiology* 1981;54(1):3-8.
- Carlen PL, Gurevich N, Davies MF, Blaxter TJ, O'Beirne M. Enhanced neuronal K⁺ conductance: a possible common mechanism for sedative-hypnotic drug action. *Can J Physiol Pharmacol* 1985;63(7):831-837.
- Chang Y, Wang R, Barot S, Weiss DS. Stoichiometry of a recombinant GABAA receptor. *J Neurosci* 1996;16(17):5415-5424.
- Changeux JP, Giraudat J, Dennis M. The nicotinic acetylcholine receptor: molecular architecture of a ligand-regulated ion channel. *TIBS* 1987;8:459-465.
- Cheng G, Kendig JJ. Enflurane directly depresses glutamate AMPA and NMDA currents in mouse spinal cord motor neurons independent of actions on GABAA or glycine receptors. *Anesthesiology* 2000;93(4):1075-1084.
- Cheng G, Kendig JJ. Pre- and postsynaptic volatile anaesthetic actions on glycinergic transmission to spinal cord motor neurons. *Br J Pharmacol* 2002;136(5):673-684.
- Cheng SC, Brunner EA. Inhibition of GABA metabolism in rat brain synaptosomes by midazolam (RO-21-3981). *Anesthesiology* 1981;55(1):41-45.
- Corbett TH. Cancer and congenital anomalies associated with anesthetics. *Ann N Y Acad Sci* 1976;271:58-66.

- Correa-Sales C, Nacif-Coelho C, Reid K, Maze M. Inhibition of adenylate cyclase in the locus coeruleus mediates the hypnotic response to an alpha-2 agonist in the rat. *J Pharm Exp Ther* 1992;263(3):1046-1049.
- Crestani F, Low K, Keist R, Mandelli M, Mohler H, Rudolph U. Molecular targets for the myorelaxant action of diazepam. *Mol Pharmacol* 2001;59(3):442-445.
- Cromwell TH, Eger EI 2nd, Stevens WC, Dolan WM. Forane uptake, excretion, and blood solubility in man. *Anesthesiology* 1971;35(4):401-408.
- Cullen DJ. Anesthetic depth and MAC. En: *Anesthesia*. Ed. R.D. Miller, 2ª edición. Churchill Livingstone, New York 1986:553-580.
- Dale O, Brown BR Jr. Clinical pharmacokinetics of the inhalational anesthetics. *Clin Pharmacokin* 1987;12:145-167.
- Dale O, Jenssen U. Interaction of isoflurane with the binding of drugs to proteins in serum and liver cell cytosol. An in vitro study. *Br J Anaesth* 1986;58(9):1022-1026.
- Dale O, Nilsen OG. Displacement of some basic drugs from human serum proteins by enflurane, halothane and their major metabolites. *Br J Anaesth* 1984;56:535-542.
- de Jong RH, Eger EI 2nd. MAC expanded: AD50 and AD95 values of common inhalation anesthetics in man. *Anesthesiology* 1975;42(4):384-389.
- De Sarro GB, Ascoti C, Froio F, Libri V, Nistico G. Evidence that locus coeruleus is the site where clonidine and drugs acting at alpha 1- and alpha 2-adrenoceptors affect sleep and arousal mechanisms. *Br J Pharmacol* 1987;90(4):675-685.
- De Wolf AM, Fragen RJ, Avram MJ, Fitzgerald PC, Rahimi-Danesh F. The pharmacokinetics of dexmedetomidine in volunteers with severe renal impairment. *Anesth Analg* 2001;93(5):1205-1209.
- Dingemans J, Danhof M, Breimer DD. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of CNS drug effects: an overview. *Pharmacol Ther* 1988;38(1):1-52.
- Dobkin AB, Kim D, Choi JK, Levy AA. Blood serum fluoride levels with enflurane (Ethrane) and isoflurane (Forane) anaesthesia during and following major abdominal surgery. *Can Anaesth Soc J* 1973;20(4):494-498.
- Dorsch JA, Dorsch SE. *Understanding Anesthesia Equipment* (ed 3). Baltimore, MD, Williams & Wilkins, 1994, p 94.
- Doze VA, Chen BX, Maze M. Dexmedetomidine produces a hypnotic-anesthetic action in rats via activation of central alpha-2 adrenoceptors. *Anesthesiology* 1989;71:75-79.
- Doze VA, Chen BX, Tinklenberg JA, Segal IS, Maze M. Pertussis toxin and 4-aminopyridine differentially affect the hypnotic-anesthetic action of dexmedetomidine and pentobarbital. *Anesthesiology* 1990;73(2):304-307.

- Drummond JC, Todd MM, Scheller MS, Shapiro HM. A comparison of the direct cerebral vasodilating potencies of halothane and isoflurane in the New Zealand white rabbit. *Anesthesiology* 1986;65(5):462-467.
- Dubocovich ML, Langer SZ. 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* 1974;237:505-519.
- Dubocovich ML. Presynaptic alpha-adrenoceptors in the central nervous system. *Ann N Y Acad Sci* 1984;430:7-25.
- Duke PC, Fownes D, Wade JG. Halothane depresses baroreflex control of heart rate in man. *Anesthesiology* 1977;46(3):184-187.
- Dundee JW, Wilson DB. Amnesic action of midazolam. *Anaesthesia* 1980;35(5):459-461.
- Dutta S, Lal R, Karol MD, Cohen T, Ebert T. Influence of cardiac output on dexmedetomidine pharmacokinetics. *J Pharm Sci* 2000;89(4):519-527.
- Dyck JB, Shafer SL. Dexmedetomidine pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Anesth Pharm Review* 1993;1:238-245.
- Eger EI 2nd, Saidman LJ, Brandstater B. Minimum alveolar anesthetic concentration: a standard of anesthetic potency. *Anesthesiology* 1965;26(6):756-763.
- Eger EI 2nd, White AE, Brown CL, Biava CG, Corbett TH, Stevens WC. A test of the carcinogenicity of enflurane, isoflurane, halothane, methoxyflurane, and nitrous oxide in mice. *Anesth Analg* 1978;57(6):678-694.
- Eger EI 2nd, Xing Y, Laster M, Sonner J, Antognini JF, Carstens E. Halothane and isoflurane have additive minimum alveolar concentration (MAC) effects in rats. *Anesth Analg* 2003;96(5):1350-1353.
- Eger EI 2nd, Xing Y, Laster M, Sonner J. Alpha-2 adrenoceptors probably do not mediate the immobility produced by inhaled anesthetics. *Anesth Analg* 2003;96:1661-1664.
- Eger EI 2nd. Current and future perspectives on inhaled anesthetics. *Pharmacotherapy* 1998;18(5):895-910.
- Eger EI 2nd. The pharmacology of isoflurane. *Br J Anaesth* 1984;56:71S-99S.
- Eger EI 2nd. Uptake and distribution. En *Anesthesia*. Ed. R.D. Miller, 3ª edición. Churchill Livingstone, New York 1990:85-104.
- Evers AS, Crowder CM. General anesthetics. En: Goodman & Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics. Eds. Joel G. Hardman, Lee E. Limbird, Alfred Goodman Gilman, 10ª edición, McGraw-Hill 2001:337-365.
- Fain JN, García-Sainz JA. Role of phosphatidylinositol turnover in alpha-1 and adenylate cyclase inhibition in alpha-2 effects of catecholamines. *Life Sci* 1980;26:1183-1194.

- Fairbanks CA, Stone LS, Kitto KF, Nguyen HO, Posthumus IJ, Wilcox GL. Alpha(2C)-Adrenergic receptors mediate spinal analgesia and adrenergic-opioid synergy. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;300(1):282-290.
- Fang Z, Ionescu P, Chortkoff BS, Kandel L, Sonner J, Laster MJ, Eger EI 2nd. Anesthetic potencies of n-alkanols: results of additivity and solubility studies suggest a mechanism of action similar to that for conventional inhaled anesthetics. *Anesth Analg* 1997;84(5):1042-1048.
- Farnebo L, Hamberger B. Drug-induced changes in the release of [3H]-noradrenaline from field stimulated rat iris. *Br J Pharmacol* 1971;43:97-106.
- Feuerstein TJ, Huber B, Vetter J, Aranda H, Van Velthoven V, Limberger N.J Characterization of the alpha(2)-adrenoceptor subtype, which functions as alpha(2)-autoreceptor in human neocortex. *Pharmacol Exp Ther* 2000;294(1):356-362.
- Fielding S, Wilker J, Hynes M, Szewczak M, Novick WJ Jr, Lal H. A comparison of clonidine with morphine for antinociceptive and antiwithdrawal actions. *J Pharmacol Exp Ther* 1978;207(3):899-905.
- Flood P, Sonner JM, Gong D, Coates KM. Heteromeric nicotinic inhibition by isoflurane does not mediate MAC or loss of righting reflex. *Anesthesiology* 2002;97(4):902-905.
- Forster A, Gardaz JP, Suter PM, Gemperle M. Respiratory depression by midazolam and diazepam. *Anesthesiology* 1980;53(6):494-497.
- Fourcade HE, Stevens WC, Larson CP Jr, Cromwell TH, Bahlman SH, Hickey RF, Halsey MJ, Eger EI 2nd. The ventilatory effects of Forane, a new inhaled anesthetic. *Anesthesiology* 1971;35(1):26-31.
- Franks NP, Lieb WR. Do general anaesthetics act by competitive binding to specific receptors? *Nature* 1984;310(5978):599-601.
- Fujii Y, Uemura A, Toyooka H. Flumazenil recovers diaphragm muscle dysfunction caused by midazolam in dogs. *Anesth Analg* 2002;95(4):944-947.
- Fürst S. Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. *Brain Research Bulletin* 1999;48(2):129-141.
- Furst SR, Weinger MB. Dexmedetomidine, a selective alpha 2-agonist, does not potentiate the cardiorespiratory depression of alfentanil in the rat. *Anesthesiology* 1990;72(5):882-888.
- Gambarana C, Beattie CE, Rodriguez ZR, Siegel RE. Region-specific expression of messenger RNAs encoding GABAA receptor subunits in the developing rat brain. *Neuroscience* 1991;45(2):423-432.
- Gelb A, Southorn P, Rehder K, Didier EP. Sedation and respiratory mechanics in man. *Br J Anaesth* 1983;55(9):809-815.

- Gerecke M. Chemical structure and properties of midazolam compared with other benzodiazepines. *Br J Clin Pharmacol* 1983;16 Suppl 1:11S-16S.
- Gerstin KM, Gong DH, Abdallah M, Winegar BD, Eger EI 2nd, Gray AT. Mutation of KCNK5 or Kir3.2 potassium channels in mice does not change minimum alveolar anesthetic concentration. *Anesth Analg* 2003;96(5):1345-1349.
- Gómez de Segura IA, Criado AB, Santos M, Tendillo FJ. Aspirin synergistically potentiates isoflurane minimum alveolar concentration reduction produced by morphine in the rat. *Anesthesiology* 1998;89(6):1489-1494.
- Goodchild CS, Guo Z, Musgreave A, Gent JP. Antinociception by intrathecal midazolam involves endogenous neurotransmitters acting at spinal cord delta opioid receptors. *Br J Anaesth* 1996;77(6):758-763.
- Greiner AS, Larach DR. The effect of benzodiazepine receptor antagonism by flumazenil on the MAC of halothane in the rat. *Anesthesiology* 1989;70(4): 644-648.
- Greenblatt EP, Meng X. Divergence of volatile anesthetic effects in inhibitory neurotransmitter receptors. *Anesthesiology* 2001;94:1025-33.
- Gronert GA, Antognini JF. Malignant hyperthermia. En *Anesthesia*. Ed. R.D. Miller, 4ª edición. Churchill Livingstone, New York 1994:1075-1093.
- Guidotti A, Toffano G, Costa E. An endogenous protein modulates the affinity of GABA and benzodiazepine receptors in rat brain. *Nature* 1978;275(5680):553-555.
- Guo TZ, Jiang JY, Buttermann AE, Maze M. Dexmedetomidine injection into the locus ceruleus produces antinociception. *Anesthesiology* 1996;84(4):873-881.
- Hall RI, Schwieger IM, Hug CC Jr. The anesthetic efficacy of midazolam in the enflurane-anesthetized dog. *Anesthesiology* 1988;68(6): 862-866.
- Harper MH, Winter PM, Johnson BH, Eger EI 2nd. Naloxone does not antagonize general anesthesia in the rat. *Anesthesiology* 1978;49(1):3-5.
- Hartman JC, Pagel PS, Proctor LT, Kampine JP, Schmeling WT, Warltier DC. Influence of desflurane, isoflurane and halothane on regional tissue perfusion in dogs. *Can J Anaesth* 1992;39(8):877-887.
- Haxhiu MA, van Lunteren E, Cherniack NS, Deal EC. Benzodiazepines acting on ventral surface of medulla cause airway dilation. *Am J Physiol* 1989;257(4 Pt 2):R810-815.
- Hayashi Y, Maze M. Alpha-2 adrenoceptor agonists and anaesthesia. *Br J Anaesth* 1993;71:108-118.
- Hayashi Y, Sumikawa K, Maze M, Yamatodani A, Kamibayashi T, Kuro M, Yoshiya I. Dexmedetomidine prevents epinephrine-induced arrhythmias through stimulation of central alpha 2 adrenoceptors in halothane-anesthetized dogs. *Anesthesiology* 1991;75(1):113-117.

- Heizmann P, Eckert M, Ziegler WH. Pharmacokinetics and bioavailability of midazolam in man. *Br J Clin Pharmacol* 1983;16 Suppl 1:43S-49S.
- Hellyer PW, Mama KR, Shafford HL, Wagner AE, Kollias-Baker C. Effects of diazepam and flumazenil on minimum alveolar concentrations for dogs anesthetized with isoflurane or a combination of isoflurane and fentanyl. *Am J Vet Res* 2001;62(4):555-560.
- Hevers W, Lüddens H. The diversity of GABAA receptors. Pharmacological and electrophysiological properties of GABAA channel subtypes. *Mol Neurobiol* 1998;18(1):35-86.
- Hikasa Y, Okuyama K, Kakuta T, Takase K, Ogasawara S. Anesthetic potency and cardiopulmonary effects of sevoflurane in goats: comparison with isoflurane and halothane. *Can J Vet Res* 1998;62(4):299-306.
- Himes RS Jr, DiFazio CA, Burney RG. Effects of lidocaine on the anesthetic requirements for nitrous oxide and halothane. *Anesthesiology* 1977;47(5):437-440.
- Hirsch LJ, Claassen J. The current state of treatment of status epilepticus. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2002;2(4):345-356.
- Hirshman CA, Edelstein G, Peetz S, Wayne R, Downes H. Mechanism of action of inhalational anesthesia on airways. *Anesthesiology* 1982;56(2):107-111.
- Hoffman WE, Balyasnikova IV, Mahay H, Danilov SM, Baughman VL. GABA alpha6 receptors mediate midazolam-induced anxiolysis. *J Clin Anesth* 2002;14(3):206-209.
- Hoffman WE, Kochs E, Werner C, Thomas C, Albrecht RF. Dexmedetomidine improves neurologic outcome from incomplete ischemia in the rat. Reversal by the alpha 2-adrenergic antagonist atipamezole. *Anesthesiology* 1991;75(2):328-832.
- Holaday DA, Fiserova-Bergerova V, Latta IP, Zumbiel MA. Resistance of isoflurane to biotransformation in man. *Anesthesiology* 1975;43(3):325-332.
- Humphrey JA, Sedensky MM, Morgan PG. Understanding anesthesia: making sense of the absence of senses. *Human Molecular Genetics* 2002;11(10):1241-1249.
- Hursh D, Gelman S, Bradley EL Jr. Hepatic oxygen supply during halothane or isoflurane anesthesia in guinea pigs. *Anesthesiology* 1987;67(5):701-706.
- Hutchinson MA, Smith PF, Darlington CL. The behavioural and neuronal effects of the chronic administration of benzodiazepine anxiolytic and hypnotic drugs. *Prog Neurobiol* 1996;49(1): 73-97.
- Inagaki Y, Sumikawa K, Yoshiya I. Anesthetic interaction between midazolam and halothane in humans. *Anesth Analg* 1993;76(3):613-617.

- Ishizaki K, Yoshida N, Yoon DM, Yoon MH, Sudoh M, Fujita T. Intrathecally administered NMDA receptor antagonists reduce the MAC of isoflurane in rats. *Can J Anaesth* 1996;43(7):724-730.
- Ito H, Watanabe Y, Isshiki A, Uchino H. Neuroprotective properties of propofol and midazolam, but not pentobarbital, on neuronal damage induced by forebrain ischemia, based on the GABAA receptors. *Acta Anaesthesiol Scand* 1999;43(2):153-162.
- Jaakola ML, Ali-Melkkila T, Kanto J, Kallio A, Scheinin H, Scheinin M. Dexmedetomidine reduces intraocular pressure, intubation responses and anaesthetic requirements in patients undergoing ophthalmic surgery. *Br J Anaesth* 1992;68(6):570-575.
- Jaakola ML, Salonen M, Lehtinen R, Scheinin H. The analgesic action of dexmedetomidine--a novel alpha 2-adrenoceptor agonist--in healthy volunteers. *Pain* 1991;46(3):281-285.
- Janoff A, Pringle MJ, Miller KW. Correlation of general anesthetic potency with solubility in membranes. *Biochimica et biophysica Acta* 1981;649:125-128.
- Janumpalli S, Butler LS, MacMillan LB, Limbird LE, McNamara JG. A point mutation (D79N) of the alpha-2 adrenergic receptor abolishes the antiepileptogenic action of endogenous norepinephrine. *J Neurosci* 1998;18:2004-2008.
- Jardim MC, Guimaraes FS. GABAergic and glutamatergic modulation of exploratory behaviour in the dorsomedial hypothalamus. *Pharmacol Biochem Behav* 2001;69(3-4):579-584.
- Jinks SL, Martin JT, Carstens E, Jung SW, Antognini JF. Peri-MAC depression of a nociceptive withdrawal reflex is accompanied by reduced dorsal horn activity with halothane but not isoflurane. *Anesthesiology* 2003;98:1128-1138.
- Joas TA, Stevens WC, Eger EI 2nd. Electroencephalographic seizure activity in dogs during anaesthesia. *Br J Anaesth* 1971;43(8):739-745.
- Joas TA, Stevens WC. Comparison of the arrhythmic doses of epinephrine during Forane, halothane, and fluroxene anesthesia in dogs. *Anesthesiology* 1971;35(1):48-53.
- Jones DJ, Stehling LC, Zauder HL. Cardiovascular responses to diazepam and midazolam maleate in the dog. *Anesthesiology* 1979;51(5):430-434.
- Joo DT, Gong D, Sonner JM, Jia Z, MacDonald JF, Eger EI 2nd, Orser BA. Blockade of AMPA receptors and volatile anesthetics: reduced anesthetic requirements in GluR2 null mutant mice for loss of the righting reflex and antinociception but not minimum alveolar concentration. *Anesthesiology* 2001;94(3):478-488.
- Joo G, Horvath G, Klimscha W, Kekesi G, Dobos I, Szikszay M, Benedek G. The effects of ketamine and its enantiomers on the morphine- or dexmedetomidine-induced

- antinociception after intrathecal administration in rats. *Anesthesiology* 2000;93(1):231-241.
- Jorm CM, Stamford JA. Actions of morphine on noradrenaline efflux in the rat locus coeruleus are mediated via both opioid and alpha-2 adrenoceptor mechanisms. *Br J Anaesth* 1995;74:73-78.
- Kagawa K, Mammoto T, Hayashi Y, Kamibayashi T, Mashimo T, Yoshiya I. The effect of imidazoline receptors and alpha2-adrenoceptors on the anesthetic requirement (MAC) for halothane in rats. *Anesthesiology* 1997;87(4):963-967.
- Kallio A, Scheinin M, Koulu M, Ponkilainen R, Ruskoaho H, Viinamaki O, Scheinin H. Effects of dexmedetomidine, a selective alpha 2-adrenoceptor agonist, on hemodynamic control mechanisms. *Clin Pharmacol Ther* 1989;46(1):33-42.
- Kalso EA, Sullivan AF, McQuay HJ, Dickenson AH, Roques BP. Cross-tolerance between mu opioid and alpha-2 adrenergic receptors, but not between mu and delta opioid receptors in the spinal cord of the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1993;265(2):551-558.
- Kamibayashi T, Hayashi Y, Mammoto T, Yamatodani A, Sumikawa K, Yoshiya I. Role of the vagus nerve in the antidysrhythmic effect of dexmedetomidine on halothane/epinephrine dysrhythmias in dogs. *Anesthesiology* 1995;83(5):992-999.
- Kataoka Y, Shibata K, Gomita Y, Ueki S. The mammillary body is a potential site of antianxiety action of benzodiazepines. *Brain Res* 1982;241(2):374-377.
- Katz RL, Epstein RA. The interaction of anesthetic agents and adrenergic drugs to produce cardiac arrhythmias. *Anesthesiology* 1968;29(4):763-784.
- Kendig JJ, Savola MK, Woodley SJ, Maze M. Alpha-2 adrenoceptors inhibit a nociceptive response in neonatal rat spinal cord. *Eur J Pharmacol* 1991;192:293-300.
- Khan Z.P., Munday I.T., Jones R.M., Thornton C., Mant T.G., Amin D. Effects of dexmedetomidine on isoflurane requirements in healthy volunteers. 1: Pharmacodynamic and pharmacokinetic interactions. *Br J Anesth* 1999;83(3):372-380.
- Khasar SG, Green PG, Chou B, Levine JD. Peripheral nociceptive effects of alpha 2-adrenergic receptor agonists in the rat. *Neuroscience* 1995;66(2):427-432.
- Kirpekar SM, Puig M. Effect of flow-stop on noradrenaline release from normal spleens and spleens treated with cocaine, phentolamine or phenoxybenzamine. *Br J Pharmacol* 1971;43:359-369.
- Klaasen CD. Principles of toxicology & treatment of poisoning. En Goodman & Gilman's, *The Pharmacological basis of Therapeutics*, 10ª edición. Eds. Joel G. Hardman, Lee E. Limbird, Alfred Goodman Gilman. McGraw-Hill 2001:72-73.

- Klide AM, Aviado DM. Mechanism for the reduction in pulmonary resistance induced by halothane. *J Pharmacol Exp Ther* 1967;158(1):28-35.
- Klimscha W, Tong C, Eisenach JC. Intrathecal alpha sub 2-adrenergic agonists stimulate acetylcholine and norepinephrine release from the spinal cord dorsal horn in sheep: An in-vivo microdialysis study. *Anesthesiology* 1997;87(1):110-116.
- Knill RL, Gelb AW. Ventilatory responses to hypoxia and hypercapnia during halothane sedation and anesthesia in man. *Anesthesiology* 1978;49(4):244-251.
- Ko JCH, Lange DN, Mandsager RE, Payton ME, Bowen C, Kamata A, Kuo WC. Effects of butorphanol and carprofen on the minimal alveolar concentration of isoflurane in dogs. *JAVMA* 2000;217(7):1025-1028.
- Koblin DD, Chortkoff BS, Laster MJ, Eger EI 2nd, Halsey MJ, Ionescu P. Polyhalogenated and perfluorinated compounds that disobey the Meyer-Overton hypothesis. *Anesth Analg* 1994;79(6):1043-1048.
- Kohno T, Kumamoto E, Baba H, Ataka T, Okamoto M, Shimoji K, Yoshimura M. Actions of midazolam on GABAergic transmission in substantia gelatinosa neurons of adult rat spinal cord slices. *Anesthesiology* 2000;92(2):507-515.
- Kwok W-M, Martinelli AT, Fujimoto K, et al. Differential modulation of the cardiac adenosine triphosphate-sensitive potassium channel by isoflurane and halothane. *Anesthesiology* 2002;97:50-6.
- Lakhani PP, MacMillan LB, Guo TZ, McCool BA, Lovinger DM, Maze M, Limbird LE. 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* 1997 Sep 2;94(18):9950-9955.
- Lands AM, Arnold A, McAuliff JP, Ludvena FP, Brown TG. Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. *Nature* 1967;214:597-598.
- Langer SZ, Adler E, Energo A, Stefano FJE. The role of the alpha receptors in regulating noradrenaline overflow by nerve stimulation. *Proc Intl Congress Physiol Sci.* 1971;25:335.
- Langer SZ. Presynaptic regulation of catecholamine release. *Biochem Pharmacol* 1974;23:1793-1800.
- Larach DR, Schuler HG, Derr JA, Larach MG, Hensley HA, Zelis R. Halothane selectively attenuates alpha2-adrenoceptor mediated vasoconstriction, in vivo and in vitro. *Anesthesiology* 1987;66:781-792.
- Lau CE, Wang Y, Ma F. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the coexistence of stimulatory and sedative components for midazolam. *Eur J Pharmacol* 1998;346(2-3):131-144.

- Levanen J, Makela ML, Scheinin H. Dexmedetomidine premedication attenuates ketamine-induced cardiostimulatory effects and postanesthetic delirium. *Anesthesiology* 1995;82(5):1117-1125.
- Lhoest L. Study of the renal function during anesthesia with halothane and enflurane. *Acta Anaesthesiol Belg* 1976;27 suppl:272-282.
- Limbird LE. The alpha-2 adrenergic receptors. Clifton, The humana Press, 1980.
- Lingamaneni R, Birch ML, Hemmings HC Jr. Widespread inhibition of sodium channel-dependent glutamate release from isolated nerve terminals by isoflurane and propofol. *Anesthesiology* 2001;95(6):1460-1466.
- Link RE, Desai K, Hein L, Stevens ME, Chruscinski A, Bernstein B, Barsh GS, Kobilka BK. Cardiovascular regulation in mice lacking alpha-2 adrenergic receptor subtypes b and c. *Science* 1996;273:803-805.
- Lippa AS, Meyerson LR, Beer B. Molecular substrates of anxiety: clues from the heterogeneity of benzodiazepine receptors. *Life Sci* 1982;31(14):1409-1417.
- Lo MM, Niehoff DL, Kuhar MJ, Snyder SH. Differential localization of type I and type II benzodiazepine binding sites in substantia nigra. *Nature* 1983;306(5938):57-60.
- Loss GE Jr, Seifen E, Kennedy RH, Seifen AB. Aging: effects on minimum alveolar concentration (MAC) for halothane in Fischer-344 rats. *Anesth Analg* 1989;68(3):359-362.
- Low K, Crestani F, Keist R, Benke D, Brunig I, Benson JA, Fritschy JM, Rulicke T, Bluethmann H, Mohler H, Rudolph U. Molecular and neuronal substrate for the selective attenuation of anxiety. *Science* 2000;290(5489):131-134.
- Luger TJ, Hayashi T, Weiss CG, Hill HF. The spinal potentiating effect and the supraspinal inhibitory effect of midazolam on opioid-induced analgesia in rats. *Eur J Pharmacol* 1995;275(2): 153-162.
- MacDonald E, Kobilka BK, Scheinin M. Gene targeting--homing in on alpha 2-adrenoceptor-subtype function. *Trends Pharmacol Sci* 1997;18(6):211-219.
- MacDonald E, Ruskoaho H, Scheinin M, Virtanen R. Therapeutic applications of drugs acting on alpha-adrenoceptors. *Ann Clin Res* 1988;20(5):298-310.
- MacDonald E, Scheinin M, Scheinin H, Virtanen R. Comparison of the behavioural and neurochemical effects of the two optical enantiomers of medetomidine, a selective alpha-2 adrenoceptor agonist. *J Pharm Exp Ther* 1991;259(2):848-854.
- MacDonald E, Scheinin M. Distribution and pharmacology of alpha 2-adrenoceptors in the central nervous system. *J Physiol Pharmacol* 1995;46(3):241-258.
- MacMillan LB, Hein L, Smith MS, Piascik MT, Limbird LE. Central hypotensive effects of the alpha-2a adrenergic receptor subtype. *Science* 1996;273(5276):801-803.

- Mandema JW, Tukker E, Danhof M. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of the EEG effects of midazolam in individual rats: influence of rate and route of administration. *Br J Pharmacol* 1991;102(3):663-668.
- Martin DC, Plagenhoef M, Abraham J, Dennison RL, Aronstam RS. Volatile anesthetics and glutamate activation of N-methyl-D-aspartate receptors. *Biochem Pharmacol* 1995;49(6):809-817.
- Mason ST, Angel A. Anaesthesia: The role of adrenergic mechanisms. *Eur J Pharmacol* 1983;91:29-39.
- Mato M, Perez A, Otero J, Torres LM. Dexmedetomidina, un fármaco prometedor. *Rev Esp Anestesiol Reanim* 2002;49(8):407-420.
- Matta BF, Mayberg TS, Lam AM. Direct cerebro-vasodilatory effects of halothane, isoflurane, and desflurane during propofol-induced isoelectric electroencephalogram in humans. *Anesthesiology* 1995;83(5):980-985.
- Mazze RI. Metabolism of the inhaled anaesthetics: implications of enzyme induction. *Br J Anaesth* 1984;56 Suppl 1:27S-41S.
- McCarthy MP, Earnest JP, Young EF, Choe S, Stroud RM. The molecular neurobiology of the acetylcholine receptor. *Annu Rev Neurosci* 1986;9:383-413.
- McCormick DA. GABA as an inhibitory neurotransmitter in human cerebral cortex. *J Neurophysiol* 1989;62(5):1018-1027.
- McFarlane C, Warner DS, Dexter F. Interactions between NMDA and AMPA glutamate receptor antagonists during halothane anesthesia in the rat. *Neuropharmacology* 1995;34(6):659-663.
- McGrath CJ, Rempel WE, Jessen CR, Addis PB, Crimi AJ. Malignant hyperthermia-triggering liability of selected inhalant anesthetics in swine. *Am J Vet Res* 1981;42(4):604-607.
- Meert TF, De Kock M. Potentiation of the analgesic properties of fentanyl-like opioids with alpha2-adrenoceptor agonists in rats. *Anesthesiology* 1994;81(3):677-688.
- Mehta AK, Ticku MK. An update on GABAA receptors. *Brain Res Rev* 1999;29(2-3):196-217.
- Melvin MA, Johnson BH, Quasha AL, Eger EI 3rd. Induction of anesthesia with midazolam decreases halothane MAC in humans. *Anesthesiology* 1982;57(3): 238-241.
- Merin RG, Bernard JM, Doursout MF, Cohen M, Chelly JE. Comparison of the effects of isoflurane and desflurane on cardiovascular dynamics and regional blood flow in the chronically instrumented dog. *Anesthesiology* 1991;74(3):568-574.
- Merkel G, Eger EI 2nd. A comparative study of halothane and halopropane anesthesia including method for determining equipotency. *Anesthesiology* 1963;24:346-357.

- Meyer HH. Theorie der Alkoholnarkose. Arch Exp Pathol Pharmacol (Naunyn-Schmiedebergs) 1899;42:109-118.
- Miletich DJ, Ivankovich AD, Albrecht RF, Reimann CR, Rosenberg R, McKissic ED. Absence of autoregulation of cerebral blood flow during halothane and enflurane anesthesia. Anesth Analg 1976;55(1):100-109.
- Minneman KP, Hedberg A, Molinoff PB. Comparison of beta adrenergic receptor subtypes in mammalian tissues. J Pharmacol Exp Ther 1979;211:502-508.
- Mirski MA, Rossell LA, McPherson RW, Traystman RJ. Dexmedetomidine decreases seizure threshold in a rat model of experimental generalized epilepsy. Anesthesiology 1994;81(6):1422-1428.
- Miyazaki Y, Adachi T, Kurata J, Utsumi J, Shichino T, Segawa H. Dexmedetomidine reduces seizure threshold during enflurane anaesthesia in cats. Br J Anaesth 1999;82(6):935-937.
- Möhler H, Fritschy JM, Rudolph U. A new benzodiazepine pharmacology. J Pharmacol Exp Ther 2002;300(1):2-8.
- Möhler H, Okada T. Benzodiazepine receptor: demonstration in the central nervous system. Science 1977;198(4319):849-851.
- Morio M, Fujii K, Satoh N, Imai M, Kawakami U, Mizuno T, Kawai Y, Ogasawara Y, Tamura T, Negishi A, et al. Reaction of sevoflurane and its degradation products with soda lime. Toxicity of the byproducts. Anesthesiology 1992;77(6):1155-1164.
- Morrow AL, Suzdak PD, Paul SM. Benzodiazepine, barbiturate, ethanol and hypnotic steroid hormone modulation of GABA-mediated chloride ion transport in rat brain synaptoneuroosomes. Adv Biochem Psychopharmacol 1988;45:247-261.
- Moschitto LJ, Greenblatt DJ. Concentration-independent plasma protein binding of benzodiazepines. J Pharm Pharmacol 1983;35(3):179-180.
- Mueller RA, Smith RD, Spruitt WA, Breese GR. Central monoaminergic neuronal effects of MAC of halothane and cyclopropane in rats. Anesthesiology 1975;42:143-152.
- Munson ES, Larson CP Jr, Babad AA, Regan MJ, Buechel DR, Eger EI 2nd. The effects of halothane, fluroxene and cyclopropane on ventilation: a comparative study in man. Anesthesiology 1966;27(6):716-728.
- Nahorski SR, Barnett DB, Cheung Y. Alpha-adrenoceptor-effector coupling: Affinity states or heterogeneity of the alpha-2 adrenoceptor?. Clin Sci 1985;68:39s-42s.
- Nelson LE, Lu J, Guo T, Saper CB, Franks NP, Maze M. The alpha2-adrenoceptor agonist dexmedetomidine converges on an endogenous sleep-promoting pathway to exert its sedative effects. Anesthesiology 2003;98(2):428-36.

- Nguyen D, Abdul-Rasool I, Ward D, Hsieh J, Kobayashi D, Hadlock S, Singer F, Bloor B. Ventilatory effects of dexmedetomidine, atipamezole, and isoflurane in dogs. *Anesthesiology* 1992;76(4):573-579.
- Nicoll JM. Status epilepticus following enflurane anaesthesia. *Anaesthesia* 1986;41(9):927-930.
- Nielsen M, Braestrup C. Ethyl beta-carboline-3-carboxylate shows differential benzodiazepine receptor interaction. *Nature* 1980;286(5773):606-607.
- Nishiyama T, Hanaoka K. The synergistic interaction between midazolam and clonidine in spinally-mediated analgesia in two different pain models of rats. *Anesth Analg* 2001;93:1025-1031.
- Nishiyama T, Misawa K, Yokoyama T, Hanaoka K. Effects of combining midazolam and barbiturate on the response to tracheal intubation: changes in autonomic nervous system. *J Clin Anesth* 2002;14(5):344-348.
- Niv D, Davidovich S, Geller E, Urca G. Analgesic and hyperalgesic effects of midazolam: dependence on route of administration. *Anesth Analg* 1988;67(12): 1169-1173.
- Nordt SP, Clark RF. Midazolam: a review of therapeutic uses and toxicity. *J Emerg Med* 1997;15(3):357-365.
- Ossipov MH, Harris S, Lloyd P, Messineo E, Lin BS, Bagley J. Antinociceptive interaction between opioids and medetomidine: systemic additivity and spinal synergy. *Anesthesiology* 1990;73(6):1227-1235.
- Overton E. Studien über die Narkose, Zugleich ein Beitrag zur allgemeinen Pharmakologie. Verlag von Gustav Fischer, Jena, Germany, 1901:1-195.
- Pagel PS, Kampine JP, Schmeling WT, Warltier DC. Alteration of left ventricular diastolic function by desflurane, isoflurane, and halothane in the chronically instrumented dog with autonomic nervous system blockade. *Anesthesiology* 1991;74(6):1103-1114.
- Pagel PS, Kampine JP, Schmeling WT, Warltier DC. Comparison of the systemic and coronary hemodynamic actions of desflurane, isoflurane, halothane, and enflurane in the chronically instrumented dog. *Anesthesiology* 1991;74(3):539-551.
- Pain L, Launoy A, Fouquet N, Oberling P. Mechanisms of action of midazolam on expression of contextual fear in rats. *Br J Anaesth* 2002;89(4):614-621.
- Paul M, Fokt RM, Kindler CH, Dipp NC, Yost CS. Characterization of the interactions between volatile anesthetics and neuromuscular blockers at the muscle nicotinic acetylcholine receptor. *Anesth Analg* 2002;95(2):362-367.
- Pavlin EG, Su JY. Cardiopulmonary pharmacology. En *Anesthesia*. Ed. R.D. Miller, 4ª edición. Churchill Livingstone, New York 1994:125-156.

- Peden CJ, Cloote AH, Stratford N, Prys-Roberts C. The effect of intravenous dexmedetomidine premedication on the dose requirement of propofol to induce loss of consciousness in patients receiving alfentanil. *Anaesthesia* 2001;56(5):408-413.
- Perisho JA, Buechel DR, Miller RD. The effect of diazepam (Valium) on minimum alveolar anaesthetic requirement (MAC) in man. *Can Anaesth Soc J* 1971;18(5): 536-540.
- Pieri L, Schaffner R, Scherschlicht R, Polc P, Sepinwall J, Davidson A, Mohler H, Cumin R, Da Prada M, Burkard WP, Keller HH, Muller RK, Gerold M, Pieri M, Cook L, Haefely W. Pharmacology of midazolam. *Arzneimittelforschung* 1981;31(12a):2180-2201.
- Pirker S, Schwarzer C, Wieselthaler A, Sieghart W, Sperk G. GABA(A) receptors: immunocytochemical distribution of 13 subunits in the adult rat brain. *Neuroscience* 2000;101(4):815-850.
- Plummer JL, Beckwith AL, Bastin FN, Adams JF, Cousins MJ, Hall P. Free radical formation in vivo and hepatotoxicity due to anesthesia with halothane. *Anesthesiology* 1982;57(3):160-166.
- Plummer JL, Hall PM, Jenner MA, Ilesley AH, Cousins MJ. Effects of chronic inhalation of halothane, enflurane or isoflurane in rats. *Br J Anaesth* 1986;58(5):517-523.
- Price HL. The significance of catecholamine release during anaesthesia. *Br J Anaesth* 1966;38(9):705-711.
- Purchase IF. Cardiac arrhythmias occurring during halothane anaesthesia in cats. *Br J Anaesth* 1966;38(1):13-22.
- Quasha AL, Eger EI 2nd, Tinker JH. Determination and applications of MAC. *Anesthesiology* 1980;53(4):315-334.
- Rabin BC, Guo TZ, Gregg K, Maze M. Role of serotonergic neurotransmission in the hypnotic response to dexmedetomidine, an alpha 2-adrenoceptor agonist. *Eur J Pharmacol* 1996;306(1-3):51-59.
- Rabin BC, Reid K, Guo TZ, Gustafsson E, Zhang C, Maze M. Sympatholytic and minimum anesthetic concentration-sparing responses are preserved in rats rendered tolerant to the hypnotic and analgesic action of dexmedetomidine, a selective alpha(2)-adrenergic agonist. *Anesthesiology* 1996;85(3):565-573.
- Rampil IJ, King BS. Volatile anesthetics depress spinal motor neurons. *Anesthesiology* 1996;85(1):129-134.
- Rampil IJ, Laster MJ, Eger EI 2nd. Antagonism of the 5-HT(3) receptor does not alter isoflurane MAC in rats. *Anesthesiology* 2001;95(2):562-564.

- Rampil IJ, Laster MJ. No correlation between quantitative electroencephalographic measurements and movement response to noxious stimuli during isoflurane anesthesia in rats. *Anesthesiology* 1992;77(5):920-925.
- Rampil IJ, Mason P, Singh H. Anesthetic potency (MAC) is independent of forebrain structures in the rat. *Anesthesiology* 1993;78(4):707-712.
- Rampil IJ. Anesthetic potency is not altered after hypothermic spinal cord transection in rats. *Anesthesiology* 1994;80(3):606-610.
- Regan MJ, Eger EI 2nd. Effect of hypothermia in dogs on anesthetizing and apneic doses of inhalational agents. *Anesthesiology* 1967;28(4):689-699.
- Rehder K, Forbes J, Alter H, Hessler O, Stier A. Halothane biotransformation in man: a quantitative study. *Anesthesiology* 1967;28(4):711-715.
- Reichle FM, Conzen PF. Halogenated inhalational anaesthetics. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2003;17(1):29-46.
- Reilly CS, Wood AJ, Koshakji RP, Wood M. The effect of halothane on drug disposition: contribution of changes in intrinsic drug metabolizing capacity and hepatic blood flow. *Anesthesiology* 1985;63(1):70-76.
- Reves JG, Corssen G, Holcomb C. Comparison of two benzodiazepines for anaesthesia induction: midazolam and diazepam. *Can Anaesth Soc J* 1978; 25(3): 211-214.
- Reves JG, Fragen RJ, Vinik HR, Greenblatt DJ. Midazolam: pharmacology and uses. *Anesthesiology* 1985;62(3):310-324.
- Reves JG, Samuelson PN, Vinik HR. Midazolam. *Contemp Anesth Pract* 1983;7:147-162.
- Roberts E. Failure of GABAergic inhibition: A key to local and global seizures. En *Basic Mechanisms of Epilepsies: Molecular and Celular Approaches, Advances in Neurology*. Eds Delgado-Escueta AV, Ward AA, Woodbury DM, Porter RJ. New York, Raven, 1986:pp319-341.
- Robin C, Trieiger N. Paradoxical reactions to benzodiazepines in intravenous sedation: a report of 2 cases and review of the literature. *Anesth Prog* 2002;49(4):128-132.
- Roelofse JA, van der Bijl P, Joubert JJ, Breytenbach HS. Blood oxygen saturation levels during conscious sedation with midazolam. A report of 16 cases. *S Afr Med J* 1986;70(13):801-802.
- Rosenberg PH, Alila A. Accumulation of thymol in halothane vaporizers. *Anaesthesia* 1984;39(6):581-583.
- Ross WT Jr, Cardell RR Jr. Proliferation of smooth endoplasmic reticulum and induction of microsomal drug-metabolizing enzymes after ether or halothane. *Anesthesiology* 1978;48(5):325-331.

- Ruano D, Vizuite M, Cano J, Machado A, Vitorica J. Heterogeneity in the allosteric interaction between the gamma-aminobutyric acid (GABA) binding site and three different benzodiazepine binding sites of the GABAA/benzodiazepine receptor complex in the rat nervous system. *J Neurochem* 1992;58(2):485-493.
- Rudolph U, Crestani F, Benke D, Brunig I, Benson JA, Fritschy JM, Martin JR, Bluethmann H, Mohler H. Benzodiazepine actions mediated by specific gamma-aminobutyric acid(A) receptor subtypes. *Nature* 1999;401(6755):796-800.
- Ruffolo RR Jr. Distribution and function of peripheral alpha-adrenoceptors on the cardiovascular system. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 1985;22:827-833.
- Ruskoaho H, Leppaluoto J. 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* 1989;97(1):125-132.
- Sallinen J, Link RE, Haapalinna A, Viitamaa T, Kulatunga M, Sjöholm B, Macdonald E, Pelto-Huikko M, Leino T, Barsh GS, Kobilka BK, Scheinin M. Genetic alteration of alpha-2C adrenoceptor expression in mice: influence on locomotor, hypothermic, and neurochemical effects of dexmedetomidine, a subtype-nonspecific alpha 2-adrenoceptor agonist. *Mol Pharmacol* 1997;51(1):36-46.
- Salonen M, Reid K, Maze M. Synergistic interaction between alpha-2 adrenergic agonists and benzodiazepines in rats. *Anesthesiology* 1992;76:1004-1011.
- Samuelson PN, Reves JG, Kouchoukos NT, Smith LR, Dole KM. Hemodynamic responses to anesthetic induction with midazolam or diazepam in patients with ischemic heart disease. *Anesth Analg* 1981;60(11):802-809.
- Santos M, Kunkar V, García-Iturralde P, Tendillo FJ. Meloxicam, a specific COX-2 inhibitor, does not enhance the isoflurane minimum alveolar concentration reduction produced by morphine in the rat. *Anesth Analg* 2004;98:359-363.
- Savola MK, MacIver MB, Doze VA, Kendig JJ, Maze M. 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* 1991a;548(1-2):23-28.
- Savola MK, Woodley SJ, Maze M, Kendig JJ. Isoflurane and an alpha 2-adrenoceptor agonist suppress nociceptive neurotransmission in neonatal rat spinal cord. *Anesthesiology* 1991b;75(3):489-498.
- Scheinin B, Lindgren L, Randell T, Scheinin H, Scheinin M. Dexmedetomidine attenuates sympathoadrenal responses to tracheal intubation and reduces the need for thiopentone and preoperative fentanyl. *Br J Anaesth* 1992;68(2):126-131.

- Scheinin M, Kallio A, Koulu M, Viikari J, Scheinin H. Sedative and cardiovascular effects of medetomidine, a novel selective alpha 2-adrenoceptor agonist, in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 1987;24(4):443-451.
- Scheinin M, MacDonald E. An introduction to the pharmacology of alpha-2 adrenoceptors in the central nervous system. *Acta Vet Scand* 1989;85:11-19.
- Scheinin M, Sallinen J, Haapalinna A. Evaluation of the alpha2C-adrenoceptor as a neuropsychiatric drug target studies in transgenic mouse models. *Life Sci* 2001;6;68(19-20):2277-2285.
- Schmeling WT, Bloor BC. Cardiovascular effects of alpha-2 adrenoreceptors. *Anaesth Pharmacol Rev* 1993;1:246-262.
- Schneider G, Mappes A, Neissendorfer T, Schabacker M, Kuppe H, Kochs E. EEG-based indices of anaesthesia: correlation between bispectral index and patient state index? *Eur J Anaesthesiol* 2004;21(1):6-12.
- Schofield PR, Darlison MG, Fujita N, Burt DR, Stephenson FA, Rodriguez H, Rhee LM, Ramachandran J, Reale V, Glencorse TA, et al. Sequence and functional expression of the GABA A receptor shows a ligand-gated receptor super-family. *Nature* 1987;328(6127):221-227.
- Schwartz DD, Jones WG, Hedden KP, Clark TP. Molecular and pharmacological characterization of the canine brainstem alpha-2A adrenergic receptor. *J Vet Pharmacol Ther* 1999;22(6):380-386.
- Schwieger IM, Jorge-Costa M, Pizzolato GP, Forster A, Morel DR. Intrathecal midazolam reduces isoflurane MAC and increases the apnoeic threshold in rats. *Can J Anaesth* 1994;41(2): 144-148.
- Seagard JL, Elegbe EO, Hopp FA, Bosnjak ZJ, von Colditz JH, Kalbfleisch JH, Kampine JP. Effects of isoflurane on the baroreceptor reflex. *Anesthesiology* 1983;59(6):511-520.
- Segal IS, Vickery RG, Maze M. Dexmedetomidine decreases halothane anesthetic requirements in rats. *Acta Vet Scand Suppl* 1989;85:55-59.
- Segal IS, Vickery RG, Walton JK, Doze VA, Maze M. Dexmedetomidine diminishes halothane anesthetic requirements in rats through a postsynaptic alpha-2 adrenergic receptor. *Anesthesiology* 1988;69:818-823.
- Serrao JM, Stubbs SC, Goodchild CS, Gent JP. Intrathecal midazolam and fentanyl in the rat: evidence for different spinal antinociceptive effects. *Anesthesiology* 1989;70(5): 780-786.

- Shimode N, Fukuoka T, Tanimoto M, Tashiro C, Tokunaga A, Noguchi K. The effects of dexmedetomidine and halothane on Fos expression in the spinal dorsal horn using a rat postoperative pain model. *Neuroscience Letters* 2003;343:45-48.
- Shingu K, Eger EI 2nd, Johnson BH. Hypoxia may be more important than reductive metabolism in halothane-induced hepatic injury. *Anesth Analg* 1982;61(10):824-827.
- Short TG, Chui PT. Propofol and midazolam act synergistically in combination. *Br J Anaesth* 1991;67(5): 539-545.
- Sieghart W. Structure and pharmacology of gamma-aminobutyric acidA receptor subtypes. *Pharmacol Rev* 1995;47(2):181-234.
- Sigel E, Buhr A. The benzodiazepine binding site of GABA_A receptors. *TIPS* 1997;18:425-429.
- Smith TA. Type A gamma-aminobutyric acid (GABAA) receptor subunits and benzodiazepine binding: significance to clinical syndromes and their treatment. *Br J Biomed Sci* 2001;58(2):111-121.
- Sonner JM, Antognini JF, Dutton RC, Flood P, Gray AT, Harris RA, Homanics GE, Kendig J, Orser B, Raines DE, Trudell J, Vissel B, Eger EI 2nd. Inhaled anesthetics and immobility: mechanisms, mysteries, and minimum alveolar anesthetic concentration. *Anesth Analg* 2003;97:718-740.
- Stabernack C, Sonner JM, Laster M, Zhang Y, Xing Y, Sharma M, Eger EI 2nd. Spinal N-methyl-d-aspartate receptors may contribute to the immobilizing action of isoflurane. *Anesth Analg* 2003;96(1):102-107.
- Starke K, Montel H, Gayk W, Merker R. Comparison of the effects of clonidine on pre- and post-synaptic adrenoceptors in the rabbit pulmonary artery. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1974;285:133-150.
- Starke K. Alpha-adrenoceptor subclassification. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1981;88:199-236.
- Starke K. Influence of alpha-receptor stimulants on noradrenaline release. *Naturwissenschaften* 1971;58:420.
- Steffey EP, Giri SN, Dunlop CI, Cullen LK, Hodgson DS, Willits N. Biochemical and haematological changes following prolonged halothane anaesthesia in horses. *Res Vet Sci* 1993;55(3):338-345.
- Steffey EP, Howland D Jr, Giri S, Eger EI 2nd. Enflurane, halothane, and isoflurane potency in horses. *Am J Vet Res* 1977;38(7):1037-1039.
- Steffey EP, Howland D Jr. Isoflurane potency in the dog and cat. *Am J Vet Res* 1977;38(11):1833-1836.

- Steffey EP, Woliner MJ, Howland D. Accuracy of isoflurane delivery by halothane-specific vaporizers. *Am J Vet Res* 1983;44(6):1072-1078.
- Steffey EP, Zinkl J, Howland D Jr. Minimal changes in blood cell counts and biochemical values associated with prolonged isoflurane anesthesia of horses. *Am J Vet Res* 1979;40(11):1646-1648.
- Steffey EP. Inhalation anesthetics. En *Lumb & Jones Veterinary Anesthesia*, 3rd Edition. Eds. Thurmon JC, Tranquilli WJ y Benson GJ. Lippincott Williams & Wilkins, Maryland 1996:297-329.
- Steffey EP. Inhalation anesthetics. En *Veterinary Pharmacology & Therapeutics*. Ed. H. Richard Adams, 8ª edición. Iowa State University Press 2001;184-212.
- Stephenson FA, Duggan MJ, Pollard S. 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* 1990;265(34):21160-21165.
- Strout CD, Nahrwold ML. Halothane requirement during pregnancy and lactation in rats. *Anesthesiology* 1981;55(3):322-323.
- Study RE, Barker JL. Diazepam and (--)pentobarbital: fluctuation analysis reveals different mechanisms for potentiation of gamma-aminobutyric acid responses in cultured central neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1981;78(11):7180-7184.
- Suárez E, Aguilera L, Calvo R, Rodriguez-Sasiain JM, Martinez-Jorda R. Effect of halothane anesthesia and trifluoroacetic acid on protein binding of benzodiazepines. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1991;13(10):693-696.
- Sullivan AF, Kalso EA, McQuay HJ, Dickenson AH. The antinociceptive actions of dexmedetomidine on dorsal horn neuronal responses in the anaesthetized rat. *Eur J Pharmacol* 1992;215:127-133.
- Surprenant A, Horstman DA, Akbarali H, Limbird LE. A point mutation of the alpha 2-adrenoceptor that blocks coupling to potassium but not calcium currents. *Science* 1992;257(5072):977-80.
- Taira Y, Nakakimura K, Matsumoto M, Sakabe T. Spinal and supraspinal midazolam potentiates antinociceptive effects of isoflurane. *Br J Anaesth* 2000;85(6):881-886.
- Talke P, Tayefeh F, Sessler DI, Jeffrey R, Noursalehi M, Richardson C. Dexmedetomidine does not alter the sweating threshold, but comparably and linearly decreases the vasoconstriction and shivering thresholds. *Anesthesiology* 1997;87(4):835-841.
- Tallman JF, Gallager DW. The GABA-ergic system: a locus of benzodiazepine action. *Annu Rev Neurosci* 1985;8:21-44.

- Tanelian DL, Kosek P, Mody I, MacIver MB. The role of the GABAA receptor/chloride channel complex in anesthesia. *Anesthesiology* 1993;78(4):757-776.
- Targ AG, Yasuda N, Eger EI 2nd, Huang G, Vernice GG, Terrell RC, Koblin DD. Halogenation and anesthetic potency. *Anesth Analg* 1989;68(5):599-602.
- Tatsuo MA, Salgado JV, Yokoro CM, Duarte ID, Francischi JN. Midazolam-induced hyperalgesia in rats: modulation via GABA(A) receptors at supraspinal level. *Eur J Pharmacol* 1999;370(1):9-15.
- Taylor JW, Simon KB. Possible intramuscular midazolam-associated cardiorespiratory arrest and death. *DICP* 1990;24(7-8):695-697.
- Tejwani GA, Rattan AK, Sribanditmongkol P, Sheu MJ, Zuniga J, McDonald JS. Inhibition of morphine-induced tolerance and dependence by a benzodiazepinereceptor agonist midazolam in the rat. *Anesth Analg* 1993;76(5): 1052-1060.
- Terrell RC. Physical and chemical properties of anesthetic agents (with an appendix on the manufacture of isoflurane). *Br J Anaesth* 1984;56:3S-7S.
- Todd MM, Drummond JC. A comparison of the cerebrovascular and metabolic effects of halothane and isoflurane in the cat. *Anesthesiology* 1984;60(4):276-282.
- Tretter V, Ehya N, Fuchs K, Sieghart W. Stoichiometry and assembly of a recombinant GABAA receptor subtype. *J Neurosci* 1997;17(8):2728-2737.
- Trojnar MK, Malek R, Chroscinska M, Nowak S, Blaszczyk B, Czuczwar SJ. Neuroprotective effects of antiepileptic drugs. *Pol J Pharmacol* 2002;54(6):557-566.
- Turski L, Klockgether T, Schwarz M, Turski WA, Sontag KH. Substantia nigra: a site of action of muscle relaxant drugs. *Ann Neurol* 1990;28(3):341-348.
- Turski L, Stephens DN. Effect of the beta-carboline abecarnil on spinal reflexes in mice and on muscle tone in genetically spastic rats: a comparison with diazepam. *J Pharmacol Exp Ther* 1993;267(3): 1215-1220.
- Uehleke H, Hellmer KH, Tabarelli-Poplowski S. Metabolic activation of halothane and its covalent binding to liver endoplasmic proteins in vitro. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1973;279(1):39-52.
- Vainio OM, Bloor BC. Relation between body temperature and dexmedetomidine-induced minimum alveolar concentration and respiratory changes in isoflurane-anaesthetized miniature swine. *Am J Vet Res* 1994;55(7):1000-1006.
- Van Dyke RA, Wood CL. In vitro studies on irreversible binding of halothane metabolite to microsomes. *Drug Metab Dispos* 1975;3(1):51-57.
- van Zwieten PA. Antihypertensive drugs interacting with α - and β -adrenoceptors. A review of basic pharmacology. *Drugs* 1988;35(S6):6-19.

- van Zwieten PA, Chalmers JP. Different types of centrally acting antihypertensives and their targets in the central nervous system. *Cardiovasc Drugs Ther* 1994;8(6):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. Preliminary UK experience of dexmedetomidine, a novel agent for postoperative sedation in the intensive care unit. *Anaesthesia* 1999;54(12):1136-1142.
- Vergani D, Mieli-Vergani G, Alberti A, Neuberger J, Eddleston AL, Davis M, Williams R. Antibodies to the surface of halothane-altered rabbit hepatocytes in patients with severe halothane-associated hepatitis. *N Engl J Med* 1980;303(2):66-71.
- Vickery RG, Sheridan BC, Segal IS, Maze M. Anesthetic and hemodynamic effects of the stereoisomers of medetomidine, an alpha-2 adrenergic agonist, in halothane-anesthetized dogs. *Anesth Analg* 1988;67:611-115.
- Vinik HR, Bradley EL Jr, Kissin I. Midazolam-alfentanil synergism for anesthetic induction in patients. *Anesth Analg* 1989;69(2): 213-217.
- Walser A, Benjamin LE, Flynn T, Mason C, Schwartz R, Fryer RI. Quinazolines and 1,4-benzodiazepines. Synthesis and reactions of imidazo(1,5-a)(1,4)benzodiazepines. *J Org Chem* 1978;43:936-944.
- Wang MY, Rampil IJ, Kendig JJ. Ethanol directly depresses AMPA and NMDA glutamate currents in spinal cord motor neurons independent of actions on GABAA or glycine receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;290(1):362-367.
- Way WL, Trevor AJ. Farmacología de los anestésicos intravenosos no opiáceos. En: *Anestesia*. Ed. Miller RD 1988;pp753-758.
- Weiner N, Taylor P. Neurohumoral transmission: The autonomic and somatic motor nervous systems. En *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Eds. Gilman AG, Goodman LS, Gilman A. MacMillan Publishing, New York 1986;66-99.
- Weinger MB, Partridge BL, Henry AF. Dexmedetomidine does not modify the neuromuscular blocking action of vecuronium in the anaesthetized rat. *Br J Anaesth* 1995;74:455-457.
- Weinger MB, Segal IS, Maze M. Dexmedetomidine, acting through central alpha-2 adrenoceptors, prevents opiate-induced muscle rigidity in the rat. *Anesthesiology* 1989;71(2):242-249.
- Weiskopf RB, Eger EI 2nd, Holmes MA, Rampil IJ, Johnson B, Brown JG, Yasuda N, Targ AG. Epinephrine-induced premature ventricular contractions and changes in arterial blood pressure and heart rate during I-653, isoflurane, and halothane anesthesia in swine. *Anesthesiology* 1989;70(2):293-298.

- Weksler B, NG B, Lenert J, Burt M. A simplified method for endotracheal intubation in the rat. *J Appl Physiol* 1994;76(4):1823-1825.
- White PF, Johnston RR, Eger EI 2nd. Determination of anesthetic requirement in rats. *Anesthesiology* 1974;40(1):52-57.
- White PF, Marietta MP, Pudwill CR, Way WL, Trevor AJ. Effects of halothane anesthesia on the biodisposition of ketamine in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1976;196(3):545-555.
- Whitehair KJ, Steffey EP, Woliner MJ, Willits NH. Effects of inhalation anesthetic agents on response of horses to three hours of hypoxemia. *Am J Vet Res* 1996;57(3):351-360.
- Whitwam JG, Al-Khudhairi D, McCloy RF. Comparison of midazolam and diazepam in doses of comparable potency during gastroscopy. *Br J Anaesth* 1983;55(8):773-777.
- Wikberg JES. The pharmacological classification of adrenergic alpha-1 and alpha-2 receptors and their mechanisms of action. *Acta Physiol Scand (suppl)* 1979;468:1-110.
- Wilder-Smith OH, Ravussin PA, Decosterd LA, Despland PA, Bissonnette B. Midazolam premedication and thiopental induction of anaesthesia: interactions at multiple endpoints. *Br J Anaesth* 1999;83(4): 590-595.
- Wong SM, Cheng G, Homanics GE, Kendig JJ. Enflurane actions on spinal cords from mice that lack the beta3 subunit of the GABA(A) receptor. *Anesthesiology* 2001;95(1):154-164.
- Woo GK, Williams TH, Kolis SJ, Warinsky D, Sasso GJ, Schwartz MA. Biotransformation of [¹⁴C]midazolam in the rat in vitro and in vivo. *Xenobiotica* 1981;11(6):373-384.
- Wood M. Pharmacokinetic drug interactions in anaesthetic practice. *Clin Pharmacokinet* 1991;21(4):285-307.
- Yaksh TL, Reddy SV. Studies in the primate on the analgesic effects associated with intrathecal actions of opiates, alpha-adrenergic agonists and baclofen. *Anesthesiology* 1981;54(6):451-467.
- Zambotti F, Zonta N, Tammiso R, Conci F, Hafner B, Zecca L, Ferrario P, Mantegazza P. Effects of diazepam on nociception in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1991;344(1): 84-89.
- Zhang Y, Eger EI 2nd, Dutton RC, Sonner JM. Inhaled anesthetics have hyperalgesic effects at 0,1 minimum alveolar anesthetic concentration. *Anesth Analg* 2000;91(2):462-466.

- Zhang Y, Laster MJ, Eger EI 2nd, Stabernack CR, Sonner JM. Blockade of 5-HT_{2A} receptors may mediate or modulate part of the immobility produced by inhaled anesthetics. *Anesth Analg* 2003a;97(2):475-479.
- Zhang Y, Laster MJ, Hara K, Harris RA, Eger EI 2nd, Stabernack CR, Sonner JM. Glycine receptors mediate part of the immobility produced by inhaled anesthetics. *Anesth Analg* 2003b;96(1):97-101.
- Zhang Y, Sonner JM, Eger EI 2nd, Stabernack CR, Laster MJ, Raines DE, Harris RA. Gamma-aminobutyric acid_A receptors do not mediate the immobility produced by isoflurane. *Anesth Analg* 2004;99(1):85-90.
- Zhang Y, Wu S, Eger EI 2nd, Sonner JM. Neither GABA(A) nor strychnine-sensitive glycine receptors are the sole mediators of MAC for isoflurane. *Anesth Analg* 2001;92(1):123-127.
- Zhou HH, Jin TT, Qin B, Turndorf H. Suppression of spinal cord motoneuron excitability correlates with surgical immobility during isoflurane anesthesia. *Anesthesiology* 1998;88(4):955-961.
- Ziegler WH, Schalch E, Leishman B, Eckert M. Comparison of the effects of intravenously administered midazolam, triazolam and their hydroxy metabolites. *Br J Clin Pharmacol* 1983;16 Suppl 1:63S-69S.