



**UNIVERSIDAD DE MURCIA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

Estudio Anestésico, Farmacocinético y Farmacodinámico  
de la Alfaxalona en el Conejo, Administrada de Forma  
Aislada o Conjunta con Dexmedetomidina

**D. Crhystian Arnulfo Torres Rodríguez**  
**2015**





D. Eliseo Belda Mellado, Profesor Contratado Doctor del Área de Medicina y Cirugía Animal del Departamento de Medicina y Cirugía Animal, de la Universidad de Murcia.

INFORMA:

Que la Tesis Doctoral titulada, “**Estudio anestésico, farmacocinético y farmacodinámico de la Alfaxalona en el conejo, administrada de forma aislada o conjunta con Dexmedetomidina**”, de la que es autor D. Crhystian Arnulfo Torres Rodríguez, ha sido realizada bajo mi dirección y que los objetivos planteados, el material bibliográfico, la metodología de las experiencias, y los resultados y conclusiones cumplen las condiciones exigidas para ser elevada a Tribunal específico, a efectos de ser evaluada.

Murcia, a veintisiete de octubre de dos mil quince.

Dr. Eliseo Belda Mellado

Profesor Contratado Doctor





D. Francisco Ginés Laredo Álvarez, Profesor Titular de Universidad del Área de Medicina y Cirugía Animal del Departamento de Medicina y Cirugía Animal, de la Universidad de Murcia.

INFORMA:

Que la Tesis Doctoral titulada, “**Estudio anestésico, farmacocinético y farmacodinámico de la Alfaxalona en el conejo, administrada de forma aislada o conjunta con Dexmedetomidina**”, de la que es autor D. Crhystian Arnulfo Torres Rodríguez, ha sido realizada bajo mi dirección y que los objetivos planteados, el material bibliográfico, la metodología de las experiencias, y los resultados y conclusiones cumplen las condiciones exigidas para ser elevada a Tribunal específico, a efectos de ser evaluada.

Murcia, a veintisiete de octubre de dos mil quince.

Dr. Francisco Ginés Laredo Álvarez

Profesor Titular de Universidad





Dña. Elisa Escudero Pastor, Catedrática de Universidad del Área de Farmacología del Departamento de Farmacología, de la Universidad de Murcia.

INFORMA:

Que la Tesis Doctoral titulada, “**Estudio anestésico, farmacocinético y farmacodinámico de la Alfaxalona en el conejo, administrada de forma aislada o conjunta con Dexmedetomidina**”, de la que es autor D. Crhystian Arnulfo Torres Rodríguez, ha sido realizada bajo mi dirección y que los objetivos planteados, el material bibliográfico, la metodología de las experiencias, y los resultados y conclusiones cumplen las condiciones exigidas para ser elevada a Tribunal específico, a efectos de ser evaluada.

Murcia, a veintisiete de octubre de dos mil quince.

Dra. Elisa Escudero Pastor

Profesora Catedrática de Universidad



***A mi familia***



**AGRADECIMIENTOS**



Mi más sincero agradecimiento:

A mi madre, por darme la vida, por inculcarme el valor del trabajo bien hecho, y por enseñarme que hay que darlo todo sin importar la cuota de sacrificio necesaria.

A mi padre, por ser pieza fundamental en toda mi formación académica y personal, por enseñarme aquello que dice: "Porque de nada sirve el Doctor, si es el ejemplo malo del pueblo".

A mi hermana, quien a pesar de la distancia no solo en kilómetros sino en edad, me ha apoyado en todos los sentidos y me ha otorgado sin quererlo, la responsabilidad de ser su ejemplo.

A Ewa, de quien he aprendido muchas cosas valiosas; quien me ha recordado que en esta vida estamos para ser felices. Gracias por ese aporte de felicidad a mi vida.

A los Doctores Eliseo Belda, Elisa Escudero y Francisco Laredo, quienes confiaron en mí para el desarrollo de este proyecto, por toda su colaboración especialmente al final de este proceso, y por su paciencia y entendimiento en aquellos momentos difíciles en lo personal.

A Verónica y Pedro del departamento de farmacología, por su inmensa colaboración en todo el proceso laboratorial y de campo de este trabajo.

A todo el personal clínico y de servicios del Hospital Veterinario de la Universidad de Murcia, con quienes de una u otra manera tuve contacto y me echaron una mano en lo que necesitase.

A Mariano, Fina, Paco y a todos y cada uno de los integrantes de mi familia granjera, nunca me olvidaré de ninguno. Gracias por el cariño y la compañía tan necesaria, en los momentos de soledad que en la distancia puede sentir un extranjero.

A mi familia del Cucho`s club quienes han sido mi familia, mis amigos, mis hermanos, mi todo en España. Creo que nada hubiese sido posible sin una familia y una hermandad como la nuestra. Gracias por estar en todos los momentos.

A todos mis amigos y familiares que siempre me apoyaron en los momentos buenos y no tan buenos, y que me alentaron para culminar este proyecto.

A Karen, quien incondicionalmente siempre me apoyó en todas las decisiones y me brindó su más sincero cariño.

A los animales, porque sin ellos nada de esto tendría sentido.

A todos ellos, muchísimas gracias!

**ÍNDICE**



|       |  |    |
|-------|--|----|
| 1     | INTRODUCCIÓN   | 2  |
| 2     | REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA                                   | 12 |
| 2.1   | PARTICULARIDADES DE LA ESPECIE                           | 13 |
| 2.2   | TRANQUILIZACIÓN/SEDACIÓN                                 | 17 |
| 2.2.1 | Agonistas alfa-2-adrenérgicos                            | 18 |
| 2.3   | ANESTESIA  | 28 |
| 2.3.1 | Anestésicos neuroesteroides                              | 28 |
| 2.4   | CONCEPTOS FARMACOLÓGICOS                                 | 37 |
| 2.4.1 | Farmacodinamia   | 37 |
| 2.4.2 | Farmacocinética  | 38 |
| 2.5   | MONITORIZACIÓN   | 39 |
| 2.5.1 | Frecuencia cardíaca                                      | 40 |
| 2.5.2 | Frecuencia respiratoria                                  | 40 |
| 2.5.3 | Presión arterial   | 41 |
| 2.5.4 | Pulsioximetría   | 41 |
| 2.5.5 | Fracción espirada de CO <sub>2</sub>                     | 42 |
| 2.5.6 | Temperatura  | 42 |
| 2.5.7 | Gases arteriales   | 43 |
| 3     | MATERIAL Y MÉTODOS                                       | 46 |
| 3.1   | MATERIAL   | 48 |
| 3.1.1 | Material Animal  | 48 |
| 3.1.2 | Material para farmacocinética y farmacodinamia           | 48 |
| 3.1.3 | Material de anestesia                                    | 51 |
| 3.2   | MÉTODOS  | 52 |
| 3.2.1 | Experiencia 1. Estudio farmacocinético y farmacodinámico | 52 |
| 3.2.2 | Experiencia 2. Estudio clínico/anestésico                | 63 |
| 4     | RESULTADOS   | 72 |

|       |   |     |
|-------|---|-----|
| 4.1   | EXPERIENCIA 1. ESTUDIO FARMACOCINÉTICO Y FARMACODINÁMICO-----   | 75  |
| 4.1.1 | Administración Intravenosa de Alfaxalona -----  | 75  |
| 4.1.2 | Administración Intramuscular de Alfaxalona -----  | 77  |
| 4.1.3 | Administración Intravenosa de Alfaxalona en combinación con la Administración Intramuscular de Dexmedetomidina-----   | 78  |
| 4.1.4 | Administración Intramuscular de Alfaxalona en combinación con la Administración intramuscular de Dexmedetomidina-----   | 80  |
| 4.1.5 | Comparación de los parámetros farmacocinéticos de Alfaxalona obtenidos tras su administración intravenosa e intramuscular, administrada de forma única o en combinación con Dexmedetomidina.----- | 82  |
| 4.1.6 | Evaluación del grado de sedación/anestesia-----   | 84  |
| 4.1.7 | Evaluación de los parámetros cardiorrespiratorios -----   | 90  |
| 4.2   | EXPERIENCIA 2. ESTUDIO CLÍNICO/ANESTÉSICO-----  | 97  |
| 4.2.1 | Evaluación del grado de sedación -----  | 97  |
| 4.2.2 | Monitorización anestésica-----  | 104 |
| 4.3   | ANEXO de resultados-----  | 113 |
| 4.3.1 | Estudio farmacocinético/farmacodinámico-----  | 113 |
| 4.3.2 | Estudio clínico/anestésico-----   | 134 |
| 5     | DISCUSIÓN-----  | 140 |
| 5.1   | aspectos farmacocinéticos y farmacodinámicos -----  | 142 |
| 5.1.1 | Administración Intravenosa de Alfaxalona -----  | 142 |
| 5.1.2 | Administración Intramuscular de Alfaxalona -----  | 150 |
| 5.1.3 | Administración Intravenosa de Alfaxalona en combinación con Dexmedetomidina por vía Intramuscular-----  | 154 |
| 5.1.4 | Administración Intramuscular de Alfaxalona en combinación con Dexmedetomidina por vía Intramuscular-----  | 158 |
| 5.2   | ASPECTOS ANESTÉSICOS-----   | 161 |
| 6     | CONCLUSIONES-----   | 178 |
| 7     | RESUMEN -----   | 182 |

|   |                    |     |
|---|--------------------|-----|
| 8 | SUMMARY -----      | 190 |
| 9 | BIBLIOGRAFÍA ----- | 198 |



## 1 INTRODUCCIÓN



El conejo doméstico (*Oryctolagus cuniculi*), perteneciente a la especie denominada como *Lagomorfos* (Flecknell, 1996), es un animal de gran importancia en investigación experimental y clínica, no solo orientada a estudios en medicina veterinaria, sino también en estudios que pueden tener impacto en la salud humana. Los lagomorfos han gozado de bastante popularidad como especie destinada a estudios de investigación *in vivo*. Esto se debe principalmente a su bajo coste, su tamaño, la facilidad para manipularlos y para obtener accesos vasculares sencillos, y unas características morfofisiológicas y bioquímicas muy deseables de cara al proceso de investigación biomédica (Lipman et al., 2008). Además, actualmente el conejo se ubica en la tercera posición por detrás de los perros y los gatos como especie adoptada como mascota. Muchos de estos animales ingresan a la consulta para procedimientos dentales o curas y requieren ser sedados o anestesiados. Por tanto, es fundamental el conocimiento y el reconocimiento de los aspectos morfológicos y fisiológicos de ésta especie, al abordar aspectos relacionados con la anestesia. Como agravante, estos animales pueden y suelen tener problemas añadidos al problema base, como malnutrición y deshidratación, que deben ser tenidos en cuenta ya que suponen un incremento del riesgo anestésico (Flecknell, 1996).

En el ámbito veterinario es bastante reconocido el riesgo que supone la administración de fármacos sedantes o anestésicos en los conejos. Estudios han demostrado que ésta especie posee un riesgo anestésico más elevado que los perros y los gatos usados como mascotas (Wenger, 2012), así como también señalan que la mayor parte de las complicaciones relacionadas con la mortalidad anestésica en estos animales suelen aparecer en el periodo postanestésico (Flecknell, 2006). Este riesgo incrementado puede deberse a diversos factores, entre los cuales se pueden mencionar: la presencia de enfermedades subyacentes como la pasterolosis (que puede afectar de manera significativa la ventilación) (Flecknell, 1996), la hipotermia (muy relacionada con su tamaño), la destreza añadida que se requiere para lograr la intubación orotraqueal y la venopunción (Dugdale, 2010), las complicaciones añadidas al impacto

sobre la digestión en el proceso anestésico o quirúrgico (Flecknell et al., 2007), y la manipulación que en ocasiones suele dificultarse debido al carácter nervioso y escurridizo de estos animales (Borkowsky y Karas, 1999), entre otros factores.

Dados los aspectos propios de la especie de cara a la anestesia en los conejos, es interesante que los fármacos utilizados tengan una serie de características deseables para minimizar el riesgo anestésico. Este no solo se manifiesta en el periodo anestésico como tal, sino también en los periodos pre y post. En una anestesia ideal, la administración de los fármacos debería realizarse de una forma sencilla (IM o SC), que la inducción anestésica se alcance de forma suave y progresiva sin alterar la función cardiorrespiratoria y con una cobertura analgésica adecuada. Además deberían utilizarse fármacos que puedan ser revertidos o que tengan una vida media corta, con el fin de acelerar el proceso de recuperación, que en estos animales cobra gran importancia (Green, 1975).

Los agonistas alfa-2 adrenérgicos, son un grupo de fármacos tranquilizantes con efectos sedantes, ampliamente extendidos en la práctica clínica veterinaria, dentro de los cuales destacan la xilacina, la medetomidina y la dexmedetomidina. Su gran aceptación radica en que aportan unas características deseables, tanto como fármacos preanestésicos, como pilares en los métodos de restricción química orientados al diagnóstico o a pequeñas intervenciones médico-quirúrgicas. Dichas características comprenden la tranquilización, la ansiólisis, la relajación y la analgesia (Lukasik, 1999). Los efectos sedantes y ansiolíticos de los agonistas alfa-2 son mediados por la activación de autorreceptores supraespinales o receptores postsinápticos localizados en el puente (locus ceruleus) (Lemke, 2007), el cual es un pequeño núcleo neuronal localizado bilateralmente en el tallo cerebral superior y es el grupo celular noradrenérgico más grande ubicado en el cerebro, siendo un importante modulador del estado de vigilia; se piensa que es el sitio más relevante donde se ejerce el mecanismo de acción sedante de los agonistas alfa-2, mediado por los receptores alfa-2a localizados allí (Murrell y Hellebrekers,

2005). De igual forma, los agonistas alfa-2 son conocidos por su capacidad para disminuir los requerimientos tanto de analgésicos opioides, como de anestésicos generales, bien sean inyectables o inhalatorios (Lawrence y De Lange, 1997). A parte de esto, los agonistas alfa-2 presentan antagonistas específicos (Lemke, 2007). Esta capacidad de reversión cobra un valor incalculable cuando se desean recuperaciones rápidas, bien sea porque las características del animal objeto de sedación o anestesia así lo requiera, o bien porque exista una situación de riesgo que demande la reversión de los efectos del fármaco.

Tras la administración de un agonista alfa-2 se produce una respuesta vagotónica que se refleja por una marcada bradicardia y una disminución del gasto cardiaco (Seymour y Gleed, 1999); además, la presión arterial puede incrementarse y no es infrecuente la aparición de bloqueos sinoatriales o atrioventriculares (Carroll, 2008). Esta actividad resulta dosis-dependiente, por lo que a dosis bajas, estos efectos suelen tener escasa repercusión y son bien tolerados por los animales (Lemke, 2007).

La dexmedetomidina es un tranquilizante con acción sedante perteneciente al grupo de los agonistas alfa-2 adrenérgicos. Se caracteriza por tener una alta especificidad por los receptores alfa-2 que por los alfa-1, muy superior a sus congéneres, siendo ésta unas 8 veces más alta que la clonidina (radio  $\alpha_2:\alpha_1 = 1600:1$ ) (Venn et al., 1999). Esta gran selectividad por los receptores alfa-2 ha despertado mucho interés, presentado en la actualidad una enorme aceptación en anestesiología, así como también para su uso en unidades de cuidados intensivos tanto en humana (Gómez-Villamandos et al., 2006) como en veterinaria. Sus efectos sobre la ventilación y principalmente sobre el sistema cardiovascular son discretos (Mato, et al., 2002), si se le compara con otros agonistas alfa-2. Así mismo, se ha demostrado que a dosis equiparables, la dexmedetomidina es tan segura como la medetomidina en la anestesia con propofol o isoflurano (Kuusela et al., 2000), y a pesar de que los efectos sedantes y analgésicos

son similares, la dexmedetomidina es ligeramente más potente (Kuusela et al., 2001) y posee una vida media más corta (Lin et al. 2008).

Como agonista alfa-2 que es, la dexmedetomidina ejerce efectos similares a sus congéneres en el sistema cardiovascular y respiratorio (Mendes et al., 2003) (Murrell y Hellebrekers 2005), estimulando de igual forma la diuresis y disminuyendo de la motilidad intestinal. Este compuesto presenta una capacidad emética menor que otros alfa-2 adrenérgicos menos selectivos; así mismo, también puede propiciar hipotermia como consecuencia de la falta de actividad muscular (Meyer y Fish, 2008). Por otro lado, se le reconoce una alta capacidad analgésica y un papel neuroprotector (Jolkkonen et al., 1999) (Iida et al., 2006).

Los anestésicos esteroideos o neuroesteroides, son compuestos derivados de hormonas esteroideas, que se caracterizan por carecer de acción hormonal, pero que tienen la capacidad de afectar la excitabilidad neuronal a través de receptores específicos (Borowicz et al., 2011). Hace algunos años, se desarrolló un anestésico que combinaba dos compuestos neuroesteroides, la alfaxalona y la alfadolona, el cual se comercializó tanto para medicina humana (Althesin®) como para veterinaria (Saffan®), registrándose su uso inicialmente para gatos (Dye y Watkins, 1980). Este anestésico constituía una alternativa a los anestésicos inyectables tradicionales, mostrando un alto nivel de seguridad, siendo probado y usado en protocolos anestésicos para varias especies. Además el Saffan® presentaba como ventaja la posibilidad de su aplicación intramuscular o intraperitoneal (calidad agradecida para animales de experimentación) (Meyer y Fish, 2008). Dentro de sus características como anestésico destacaban la pérdida rápida de los reflejos y una buena relajación muscular aunque con escaso nivel de analgesia (Flecknell, 1996). Dicho anestésico contenía como vehículo el cremofor EL, un derivado de aceite de ricino. Este vehículo era el responsable de una cantidad importante de efectos indeseables y reacciones adversas, producto de la liberación de histamina (Woodward, 2005). Dichos efectos eran mucho más marcados en perros que en gatos, por lo que en esa especie nunca obtuvo registro.

Tras el acúmulo y la identificación de reacciones adversas del producto, finalmente fue retirado del mercado tanto en humana como en veterinaria (Whittem, 2006).

Como parte de las bondades de los anestésicos esteroides eran altamente deseables, se inició la búsqueda de un agente solubilizante que permitiera aprovechar sus virtudes, eliminando las reacciones alérgicas o histaminérgicas (Tamura et al., 2015). Así, se desarrolló un compuesto anestésico esteroide a base exclusivamente de alfaxalona (Alfaxan®), el cual contiene como vehículo ciclodextrinas. Esta nueva estrategia de solubilización aporta una gran capacidad hidrofílica a la alfaxalona (Muir et al., 2009), que de por sí es hidrofóbica, permitiendo que en ésta presentación el producto pueda ser administrado, además de por vía intravenosa, por vía intramuscular (Grubb et al., 2013).

La alfaxalona vehiculizada en ciclodextrinas (Alfaxan®) ha ganado gran popularidad gracias a su margen de seguridad (Zaki et al., 2009), pudiendo combinarse en un protocolo anestésico con prácticamente todos los fármacos de uso rutinario en anestesiología (Jones, 2012). Además, tal y como ya sucedía con el Saffan® presenta una gran biodisponibilidad tras su administración intramuscular (Grubb et al., 2013). La alfaxalona se caracteriza por deprimir escasamente la función cardiovascular en términos de presión arterial y gasto cardiaco, ya que la vasodilatación moderada que induce se ve compensada con un aumento de la frecuencia cardiaca (Muir et al., 2008). A dosis elevadas puede deprimir la función respiratoria originando hipoxia, producto de la disminución de la frecuencia respiratoria (Tamura et al., 2015; Muir et al., 2008).

A pesar de que en la actualidad el Alfaxan® únicamente está registrado para su uso en perros y gatos, son varios los estudios que demuestran la viabilidad de su administración en otras especies tales como caballos (Goodwin et al., 2011), iguanas (Bertelsen y Sauer, 2011), ovejas (Andaluz et al., 2013), conejos (Marsh et al., 2009; Grint et al., 2008), entre otras. Por ello resulta importante realizar nuevos estudios sobre las

características anestésicas del fármaco, así como investigar aspectos farmacocinéticos y farmacodinámicos. De igual forma, dando un paso más hacia el uso clínico de la alfaxalona resulta importante el estudio de su administración conjunta con un fármaco sedante con el que pueda obtenerse un sinergismo apropiado y mejore la restricción química inducida por la alfaxalona en conejos. En esta línea, la combinación de alfaxalona con dexmedetomidina resulta muy atractiva para su uso en ésta especie, dadas las características de ambos fármacos.

Tras lo anteriormente expuesto, los objetivos de la presente Tesis son:

1. Evaluar la farmacocinética de la Alfaxalona en el conejo, tras su administración por vía intravenosa e intramuscular a dosis de 5 mg/kg.
2. Evaluar la farmacocinética de la Alfaxalona en el conejo, tras su administración por vía intravenosa e intramuscular a dosis de 5 mg/kg en combinación con Dexmedetomidina intramuscular a dosis de 0,1 mg/kg.
3. Valorar la calidad de la sedación/anestesia y la recuperación, derivados de la administración intravenosa e intramuscular de Alfaxalona en el conejo, sola y en asociación con Dexmedetomidina.
4. Analizar los aspectos cardiovasculares y respiratorios tras la administración intravenosa e intramuscular de Alfaxalona en el conejo, sola y en asociación con Dexmedetomidina.
5. Valorar los efectos adversos derivados del uso de Alfaxalona intramuscular e intravenosa en el conejo, así como cuando se asocia con Dexmedetomidina
6. Estudiar la vía de administración intramuscular como alternativa a la vía intravenosa para la administración de la Alfaxalona sola o combinada con Dexmedetomidina en conejos, para la consecución de una sedación

o anestesia estable, correlacionando los aspectos farmacocinéticos y farmacodinámicos.



## 2 **REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

## 2.1 PARTICULARIDADES DE LA ESPECIE

El lagomorfo más comúnmente encontrado en la práctica veterinaria es el conejo doméstico; el *Oryctolagus cuniculi*. Esta especie presenta una gran variedad de razas y muchas de ellas se han adoptado como mascotas. Suelen ser animales cuyo peso oscila entre 1 y 10 kg de adulto; sin embargo, en la clínica veterinaria lo más normal es encontrar razas pequeñas que suelen pesar entre 1,8 y 2,5 kg (Flecknell, 2006). Algunos estudios demuestran que el riesgo anestésico en estos animales es superior con relación a otras especies usadas tradicionalmente como mascotas (perros y gatos), situando dicho riesgo en torno al 1,4 % (Wenger, 2012). Más del 60 % de la mortalidad ocurre en la fase postanestésica (Flecknell, 2006).

Los conejos son usados rutinariamente para estudios de investigación in vivo. Su popularidad se ha ganado gracias a su bajo coste, a su tamaño, a la facilidad en la manipulación, a la obtención de accesos vasculares sencillos, y a una variedad de características anatómicas específicas, fisiológicas y bioquímicamente deseables. En efecto, los conejos se usan con mucha frecuencia como modelo animal para investigar y definir los efectos fisiológicos de nuevos anestésicos y analgésicos (Lipman et al., 2008).

Como ya se dijo, los conejos han sido considerados como una especie con un alto riesgo anestésico, superando en mortalidad anestésica a los perros y los gatos (Brodbelt et al., 2008); esta afirmación se basa en algunas particularidades propias de esta especie. Por ejemplo, muchos de estos animales ingresan a la clínica para procedimientos dentales y requieren ser anestesiados; dichos animales suelen tener problemas añadidos como malnutrición y deshidratación. Adicionalmente, algunas enfermedades subclínicas como podría ser la Pasterelosis, pueden afectar de manera importante la oxigenación y la ventilación durante la anestesia; estos animales pueden pasar a una fase clínica, llegando a desarrollar infección como complicación postoperatoria (Flecknell, 1996). De otro lado,

los requerimientos anestésicos de los conejos usados como mascotas, a menudo son más bajos que aquellos publicados en estudios experimentales, los cuales tradicionalmente usan animales completamente sanos y libres de patógenos. Debido a su tamaño, en los conejos el riesgo de sufrir hipotermia aumenta, como consecuencia de su área de superficie corporal relativamente grande (Dugdale, 2010).

Por otra parte, los conejos naturalmente son animales “presa”, y tienen una gran capacidad para no evidenciar signos de dolor, particularmente cuando conviven con perros o gatos. La valoración del dolor por tanto suele ser difícil, pero esto no significa que no se les deba proveer de cobertura analgésica cuando así se requiera (Dugdale, 2010).

Los conejos son animales fermentadores ceco-cólicos, y esta condición es particularmente importante reconocerla, ya que el íleo paralítico y la estasis intestinal suele ser frecuente tras una intervención quirúrgica abdominal (Flecknell et al., 2007). El timpanismo gastrointestinal, producto de éste estasis intestinal, puede potencialmente promover un desorden cardiovascular y respiratorio durante la anestesia, debido a la presión sobre el diafragma y la oclusión de vasos importantes (Dugdale, 2010).

La gran facilidad con que los conejos se estresan es una de sus principales características, particularmente tras la manipulación de una persona ajena a su entorno (Wegner, 2012). Dicho estrés puede conllevar a la aparición de arritmias inducidas por catecolaminas, y a su vez también, como ya se mencionó, promover la estasis intestinal; esto hace que la restricción física por parte del equipo veterinario y auxiliar sea más difícil de lo habitual y que pueda desembocar en resultados catastróficos (Borkowsky y Karas, 1999). Idealmente, se deben garantizar un mínimo de 72 horas para que los conejos se habitúen a la manipulación y evaluación clínica antes de ser sometido a un procedimiento anestésico (Lipman et al., 2008). El ayuno pre-anestésico suele ser innecesario en los conejos, puesto que en esta especie no se producen vómitos durante la inducción, aunque si se

va a realizar algún procedimiento quirúrgico en el tracto gastrointestinal, es conveniente instaurar las medidas necesarias para la reingesta, dado el carácter coprófago de estos animales (Flecknell, 1996).

Cuando se habla de técnicas de restricción química en conejos, hay que tener en cuenta una serie de ideales que debieran cumplir los fármacos destinados a tal fin; además se debe tener en cuenta el propio temperamento y comportamiento ante la restricción física y química de ésta especie. Por tanto, lo ideal es encontrar una combinación de fármacos que sean fácilmente administrables con el fin de minimizar la manipulación y la aprehensión. Así mismo, estos fármacos deberían garantizar una inducción suave, al igual que proveer un buen grado de analgesia, no deprimir de manera importante la función respiratoria ni tener efectos marcados sobre el sistema cardiovascular, y de ser posible, que sean reversibles bajo situaciones de peligro o riesgo (Green, 1975).

En situaciones de neuroleptoanalgesia o de anestesia quirúrgica en estudios experimentales, es importante que los fármacos utilizados causen la mínima alteración metabólica posible. Anteriormente se usaba con relativa frecuencia la inducción *sin premedicación* con agentes inhalatorios mediante el uso de mascarillas. Este tipo de inducción anestésica en esta especie puede llegar a ser especialmente problemática, fundamentalmente por la aparición de episodios de tos violenta y tiempos de inducción extremadamente prolongados e inaceptables (Flecknell y Liles, 1996).

La preoxigenación parece cobrar mucha importancia en la anestesia de los lagomorfos. Se recomienda firmemente realizarla a la hora de ejecutar cualquier procedimiento anestésico por dos motivos fundamentales. En primer lugar, como se ha comentado, pueden haberse establecido infecciones respiratorias subclínicas que podrían alterar significativamente la adecuada ventilación y oxigenación. En segundo lugar, la intubación orotraqueal no siempre es posible y requiere entrenamiento y equipamiento especial (Flecknell, 1996), por tanto, no todas las veces es posible tener una vía aérea permeable. Así pues, la

preoxigenación sería beneficiosa para disminuir en gran medida, parte de los riesgos derivados de la inducción y/o el mantenimiento anestésico. La manera más confortable para el animal y para el personal a cargo de realizar dicha preoxigenación es mediante el uso de mascarilla (Dugdale, 2010).

La inducción anestésica puede lograrse bien sea por vía intramuscular, intravenosa o inhalatoria. En este último caso, es importante que el animal esté correctamente sedado y que los flujos (primero de oxígeno y luego del anestésico) sean sutiles y se incrementen lentamente, de lo contrario puede ocurrir una sobreexcitación o la contención de la respiración (Borkowsky y Karas, 2012). Esto podría desembocar en hipoxia o en taquipnea posterior y sobredosis del agente inhalatorio, con consecuencias que pueden llegar a la fatalidad.

La intubación orotraqueal suele ser difícil por la propia anatomía de esta especie (Dugdale, 2010); poseen una cavidad oral estrecha, unos dientes incisivos muy largos y una lengua relativamente voluminosa. Dichas características dificultan la correcta visualización de la laringe. Así mismo, poseen una glotis relativamente pequeña y el laringospasmo puede ocurrir a la hora de intentar la intubación. Es altamente recomendable la nebulización de lidocaína en spray (al igual que en el gato) para intubaciones más confortables y disminuir el riesgo del laringospasmo (Flecknell, 1996). Igualmente, puede ser de utilidad el otoscopio para visualizar la laringe o para intentar una intubación a ciegas; dichas intubaciones deben ser suaves para evitar un trauma laríngeo excesivo (Flecknell et al., 2007).

Es particularmente deseable que los agentes anestésicos utilizados sean de corta acción, con el fin de facilitar recuperaciones más rápidas y completas. De esta manera el retorno de la ingesta de alimento y la función termorreguladora se logra con mayor rapidez. Así mismo, el hecho de ingerir alimentos con mayor prontitud, evita el desarrollo de estasis intestinal. Durante la recuperación, es importante que se asegure un sitio

cálido y un entorno calmado y libre de depredadores potenciales para el animal (Dugdale, 2010). Así mismo, se debe continuar con una adecuada cobertura analgésica durante el periodo postoperatorio, como ya se comentó.

## **2.2 TRANQUILIZACIÓN/SEDACIÓN**

El término tranquilización en medicina veterinaria se podría definir como un estado de calma en el que se rebaja el nivel de ansiedad pero sin inducción de somnolencia, de tal manera que el paciente se encuentra relajado aunque atento al medio que lo rodea, y podría llegar a permanecer indiferente al dolor de poca intensidad. Por otro lado, la sedación se considera como un grado de tranquilización mayor, en donde además se abate la aprensión con notoria somnolencia; el animal está desconectado del medio que le rodea pero responde a estímulos medianamente dolorosos (Sumano y Ocampo, 2006a; Thurmon y Short, 2007).

Actualmente existen diferentes tipos de tranquilizantes con o sin efectos sedantes en la práctica veterinaria, dentro de los cuales cabe destacar a las fenotiacinas, las benzodiacepinas y los agonistas alfa-2 adrenérgicos. Las fenotiacinas son un grupo de tranquilizantes muy usados y difundidos, especialmente en anestesia equina y en perros y gatos; el fármaco más reconocido y estudiado de este grupo es la acepromacina. Este fármaco se caracteriza principalmente por inhibir la ansiedad, y disminuir la actividad motora espontánea, es decir, proveer sedación (Monteiro et al, 2007); además, posee efecto antiemético, antiarrítmico, antihistamínico, y sobre el sistema cardiovascular origina vasodilatación periférica (particularmente cuando se administra por vía IV), lo que a su vez produce una disminución en la temperatura corporal. La acepromacina no posee efecto analgésico (Booth, 1988) y provee escasa relajación muscular (Lemke, 2007). De otro lado, las benzodiacepinas son un grupo de fármacos que se han catalogado como tranquilizantes, aunque especialmente suelen ser utilizados más como anticonvulsivantes,

ansiolíticos o incluso como relajantes musculares; los más destacados en medicina veterinaria son el diazepam, el midazolam y el zolacepam. Estos fármacos carecen de actividad analgésica y suelen usarse siempre en combinación con otro tipo de fármacos depresores del SNC, como tranquilizantes, analgésicos opioides o anestésicos generales (Lukasik, 1999), dados sus efectos paradójicos en algunas especies cuando se usan en solitario (Thurmon et al, 1996). Así mismo, existe otro grupo de fármacos tranquilizantes con efectos sedantes de amplísimo uso en distintas especies animales como lo son los agonistas alfa-2 adrenérgicos; para el interés del presente trabajo se hablará exclusivamente de ellos.

### **2.2.1 Agonistas alfa-2-adrenérgicos**

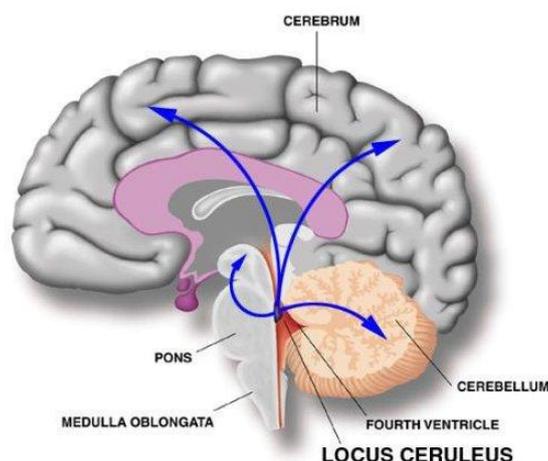
Los agonistas alfa-2 adrenérgicos son un grupo de tranquilizantes con efectos sedantes que se caracterizan por producir tranquilización, ansiólisis, relajación muscular y analgesia (Lukasik, 1999). La sedación y la analgesia son efectos prominentes de la activación de los adrenoceptores centrales alfa-2 (Granholm M. et al. 2006). Se ha descrito también que reducen los requerimientos anestésicos y proporcionan estabilidad simpática durante el periodo intraoperatorio (Lawrence y De Lange, 1997). En la mayoría de las especies, estos fármacos inducen sedación dosis-dependiente, analgesia y relajación muscular, que pueden ser fácilmente revertidas por la administración de antagonistas selectivos (Lemke, 2007). La xilacina fue el primer alfa-2 agonista centralmente activo, usado como coadyuvante anestésico. En la actualidad, otros agonistas alfa-2, más selectivos como la medetomidina y la dexmedetomidina se encuentran ampliamente disponibles (Murrell y Hellebrekers, 2005).

Los alfa-2-adrenoceptores fueron originalmente clasificados dentro del subtipo alfa-1 y alfa-2, basado en los efectos farmacológicos de la yohimbina y la prazosina. Así mismo, dentro de los agonistas alfa-2 se han descrito diferentes subtipos (a, b, c y d), según su perfil, localización e incluso la especie donde se hayan descrito. Se han identificado alfa-2-

adrenoceptores en el sistema cardiovascular, respiratorio, renal, endocrino, gastrointestinal, hematológico y nervioso central (SNC) (Maze, 2003; Khan et al., 1999; Ansah, 2004); sin embargo, aún se sigue estudiando la clasificación del número y especificidad de los diferentes alfa-2-isorreceptores encontrados en los diferentes tejidos en los mamíferos (Gross, 2003).

Los receptores alfa-2 están localizados en diferentes tejidos corporales tales como SNC, tracto gastrointestinal, útero, riñones y plaquetas (Paddleford, 1999) y la norepinefrina es el ligando endógeno para estos receptores (Lemke, 2007). Los receptores alfa-2 existen presináptica y postsinápticamente en los tejidos neuronales y no neuronales, y extrasinápticamente en el endotelio vascular y en las plaquetas. Dentro del sistema nervioso, los receptores alfa-2 están localizados presinápticamente sobre las neuronas noradrenérgicas (autorreceptores) y sobre las neuronas no noradrenérgicas (heterorreceptores).

Los efectos sedantes y ansiolíticos de los agonistas alfa-2 son mediados por la activación de autorreceptores supraespinales o receptores postsinápticos localizados en el puente (locus ceruleus) (Lemke, 2007). El locus ceruleus (LC) (Ilustración 1) es un pequeño núcleo neuronal localizado bilateralmente en el tallo cerebral superior y es el grupo celular noradrenérgico más grande ubicado en el cerebro; es un importante modulador del estado de vigilia y puede ser el lugar más relevante para la acción sedante de los agonistas alfa-2, mediado por los receptores alfa-2a localizados allí (Murrell y Hellebrekers, 2005).



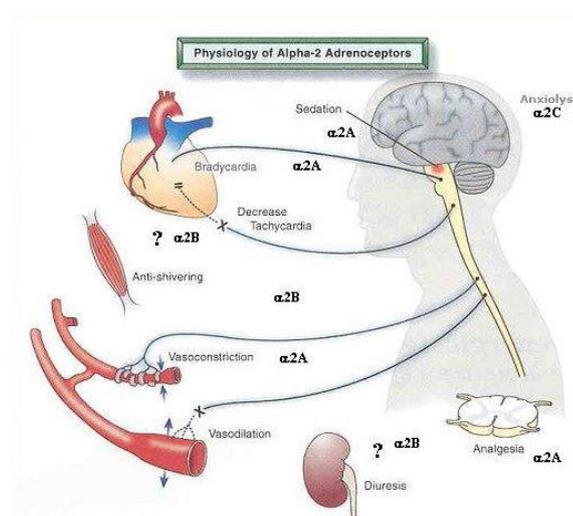
**Ilustración 1. Ubicación anatómica del Locus ceruleus**

Los receptores alfa-2 producen efectos analgésicos similares a los opioides en el SNC (Paddelford, 1999), debido a que se localizan sobre neuronas y áreas cerebrales conectadas a los mismos transductores espinales (Nilsfors et al., 1989; Hall et al., 2001). La acción tanto de los receptores alfa-2 adrenérgicos como de los opioides, resulta en activación de los mismos sistemas de transducción (la membrana asociada a las proteínas G). Cuando las proteínas G son activadas, éstas abren canales de potasio en la membrana neuronal. La salida de potasio produce hiperpolarización celular, lo que insensibiliza a las neuronas ante fenómenos de tipo excitatorio (Paddelford, 1999). La analgesia es mediada por activación de heterorreceptores localizados en el asta dorsal de la médula espinal. Receptores supraespinales alfa-2 localizados en el puente, también juegan un importante papel en la modulación descendente de la entrada nociceptiva (Lemke, 2007).

Se ha dicho que la vasoconstricción inicial y la bradicardia refleja inducida por la administración de agonistas alfa-2 son problemáticas. Sin embargo, a dosis bajas estos efectos cardiovasculares no son pronunciados ni prolongados y son bien tolerados en animales sanos (Lemke, 2007). Los agonistas alfa-2 a nivel cardiovascular producen en general una respuesta vagotónica, traducida en marcada bradicardia acompañada de disminución del gasto cardíaco (Seymour y Gleed, 1999) y los cambios sobre la presión arterial dependen de los efectos relativos de la estimulación central y

periférica (Paddleford, 1999). La estimulación extrasináptica de los adrenoceptores alfa-2 causada por los agonistas alfa-2 adrenérgicos, activa los canales de calcio originando un incremento en la concentración de calcio intracelular, produciendo contracción de la musculatura vascular lisa, complementando el efecto contráctil de los receptores alfa-1, activados mediante estimulación simpática. Debido a su localización extrasináptica, los receptores alfa-2 responden a las catecolaminas circulantes, tales como epinefrina y norepinefrina, y ayudan a mantener la vasoconstricción simpática generalizada, en respuesta a la producción de catecolaminas desde la glándula adrenal (Muir y Mason, 1996). Los agonistas alfa-2 no han sido relacionados con hipotensión en perros y gatos (presión arterial <80 mmHg) (Pypendop y Verstegen, 1998), y se ha visto que el efecto vasoconstrictor puede persistir a pesar de la administración concomitante con otros fármacos; a pesar de ello, la presión arterial puede verse alterada por esta misma razón (Murrel y Hellbrekers, 2005; Pascoe et al, 2006). Así mismo, también se reconoce que el uso de agonistas alfa-2 a nivel cardiaco puede promover la presentación de bloqueos sinoatriales y atrioventriculares de primer y segundo grado, además de arritmias sinusales (Gross et al., 1990; Salmenpera et al., 1994).

Los efectos fisiológicos tras la administración de agonistas alfa-2 se muestran en la ilustración 2.



**Ilustración 2. Fisiología de los adrenoceptores alfa-2 en distintos órganos**

Perioperatoriamente los agonistas alfa-2, solos o en combinación con opioides, se usan para producir sedación y analgesia requerida para la implantación de catéteres y para reducir la cantidad de anestésico inyectable necesaria para la intubación orotraqueal en perros, gatos y otras especies (Lemke, 2004). Así mismo, los agonistas alfa-2 reducen significativamente la concentración alveolar mínima (CAM) de anestésicos inhalatorios requeridos para mantener la anestesia (Carroll, 2008). Se ha documentado que tras la premedicación anestésica con agonistas alfa-2 tales como la medetomidina o la dexmedetomidina se disminuyen los requerimientos anestésicos de tiopental sódico, halotano, óxido nitroso, propofol e isoflurano (Bonsu, 2004; Ko et al., 2006).

En perros, la administración concurrente de agonistas alfa-2 inicialmente incrementa el tono vascular y atenúa la vasodilatación y la reducción de la presión arterial inducida por las altas concentraciones de isoflurano (Keegan, 1995), contrariamente a lo que se produce tras la administración de otros tranquilizantes como la acepromazina, la cual puede aumentar la vasodilatación y la reducción en la presión arterial inducida por el anestésico inhalatorio (Bostrom et al. 2003).

Al igual que sucede con la mayoría de sedantes y tranquilizantes, algunos pacientes pueden ser refractarios a los efectos sedantes de los agonistas alfa-2. Los fallos en la obtención de un grado de sedación óptima son a menudo debidos a estrés preexistente, miedo, excitación y dolor. El efecto sedante se adquiere correctamente cuando cualquier agonista alfa-2 es administrado a pacientes calmados en ambientes tranquilos y con mínimo estímulo ambiental. En la mayoría de especies, la consecución del efecto sedante es aún más segura cuando los agonistas alfa-2 son administrados en combinación con opioides (Lemke, 2007).

Por otro lado, las propiedades sedantes de los agonistas alfa-2 sobrepasan sus efectos analgésicos (Carroll, 2008). La sedación producida por los agonistas alfa2-adrenérgicos, a diferencia de la promovida por fármacos tradicionales como las benzodiazepinas o el propofol, no depende primariamente de la activación del sistema GABA (ácido gamma-

aminobutírico); además, el principal sitio de acción de los agonistas alfa-2 no parece ser la corteza cerebral, como debe ser el caso con los fármacos GABA-miméticos (Bekker, 2005).

Entre los efectos colaterales de la administración de agonistas alfa-2 adrenérgicos destacan el vómito (en perros y gatos) (Carroll, 2008) (no observado en el conejo), temores musculares ligeros, aumento de la diuresis, reducción en la motilidad intestinal e incremento del tono uterino (Seymour y Gleed, 1999).

#### 2.2.1.1 DEXMEDETOMIDINA

La dexmedetomidina es un agonista alfa-2 adrenoceptor; es el enantiómero activo de la medetomidina, con una afinidad más alta por el receptor alfa-2 que por el alfa-1 que su racemato (Kuusela et al., 2003). Posee una afinidad por el adrenoceptor alfa-2, 8 veces más alta que la clonidina (radio  $\alpha_2:\alpha_1 = 1600:1$ ) (Venn et al., 1999). Químicamente la dexmedetomidina es un compuesto derivado imidazólico, con una alta afinidad por el receptor alfa-2 adrenérgico, siendo un potente agonista sobre él. Su presentación clínica es en forma de clorhidrato de dexmedetomidina, siendo su nombre químico (+)-4-(S)-[1-(2,3-dimetilfenil) etil] imidazol monoclóhidrato. La dexmedetomidina posee propiedades sedantes, hipnóticas, simpaticolíticas, analgésicas, disminuye los requerimientos de otros anestésicos, y disminuye la liberación de catecolaminas (Mato et al. 2002). En humanos, es usada en sedación de pacientes en cuidados intensivos y como premedicación antes de cirugía (Gómez-Villamandos et al., 2006). Se ha demostrado que la dexmedetomidina es al menos tan segura y efectiva como la medetomidina previo a la anestesia con propofol e isoflurano (Kuusela et al., 2001). Este alfa-2 adrenérgico disminuye los requerimientos de otros fármacos como propofol o midazolam para proporcionar sedación, o de morfina para la analgesia, con unos efectos muy discretos sobre la ventilación de los pacientes (Mato, et al., 2002).

La dexmedetomidina como sus demás congéneres, parece ejercer su efecto sedante y ansiolítico a través de la activación de alfa-2 adrenoceptores en el LC, el mayor sitio de inervación noradrenérgica en el SNC; esto provoca una disminución de la liberación de noradrenalina en este grupo neuronal, disminuyendo la actividad noradrenérgica en la vía ascendente hacia el córtex, habiéndose establecido que tanto la disminución de la neurotransmisión noradrenérgica como de la serotoninérgica están asociadas con la transición del estado de vigilia al sueño (Mato et al, 2002). El LC ha sido implicado como un modulador para una variedad de funciones cerebrales críticas, incluyendo despertar, sueño, ansiedad, y síndromes de abstinencia asociados con depresores del SNC, tales como los opioides (Bekker, 2005).

Los efectos analgésicos de la dexmedetomidina son reconocidos. Según Bekker (2005), la dexmedetomidina ha mostrado consistentemente reducir los requerimientos de opioides en un 30-50%; por otro parte, Lin et al. (2008), comenta que la dexmedetomidina provee más potencia analgésica y posee una vida media más corta, comparada con una dosis equivalente de medetomidina. Los mecanismos precisos y las vías mediante las cuales la dexmedetomidina, y en general los agonistas alfa-2 inducen analgesia, no han sido bien dilucidados. Al parecer, diversos mecanismos cerebrales, espinales y periféricos podrían estar implicados. Probablemente el sitio más importante donde se ejercen dichos efectos es la médula espinal, donde la activación del subtipo de receptores alfa-2C parece acentuar las acciones analgésicas de los opioides en la atenuación de la transmisión de señales nociceptivas a los centros cerebrales (Bekker, 2005).

Aunque los efectos sedantes y analgésicos de la dexmedetomidina son similares a los de la medetomidina, la dexmedetomidina tiende a ser ligeramente más potente que la dosis equivalente de la medetomidina. Por lo tanto, este fármaco puede ofrecer algunos beneficios sobre la medetomidina, ya que los efectos de un solo enantiómero son más fáciles de predecir (Kuusela et al., 2000).

La similitud en el nivel de sedación de la dexmedetomidina a diferentes dosis y con niveles plasmáticos diferentes, sugiere la existencia de un efecto techo, aunque a dosis elevadas, el efecto es más prolongado. Algunos estudios sugieren que la habilidad de la dexmedetomidina para activar los receptores alfa-1, puede atenuar la sedación mediada por receptores alfa-2 a concentraciones altas. Estos mismos hallazgos se han visto en gatos, donde existe un nivel en el que no se incrementa el nivel de sedación a pesar de incrementarse la dosis; por el contrario, el grado de analgesia sí que aumenta al incrementarse los niveles plasmáticos de dexmedetomidina (Kuusela et al., 2000). Como se mencionó anteriormente, los agonistas alfa-2 pueden reducir drásticamente la CAM de anestésicos inhalatorios; en perros por ejemplo, se ha demostrado que la dexmedetomidina es capaz de reducir un 89% la CAM de isoflurano tras la administración de 20 µg/kg por vía IV (Kuusela et al., 2001).

La dexmedetomidina es altamente lipofílica y se distribuye rápidamente en los tejidos. Su eliminación es rápida, principalmente a través de metabolitos inactivos glucurónidos. Se excreta a través de la orina y de las heces fundamentalmente (Karol y Maze, 2000).

#### **2.2.1.1.1 Efectos cardiovasculares y respiratorios**

La discusión sobre el riesgo-beneficio del uso perioperatorio de los agonistas alfa-2 está usualmente enfocado sobre sus efectos sobre la función cardiovascular (Blake et al., 2000). Entre los cambios cardiovasculares asociados con la administración de dexmedetomidina se incluyen bradicardia, reducción del gasto cardiaco, e incremento de la resistencia vascular; todos estos efectos reconocidos de los agonistas alfa-2 adrenoceptores (Mendes et al., 2003). El incremento de la presión sanguínea resulta de la vasoconstricción periférica causada por la activación de los receptores alfa-2 postsinápticos en la musculatura lisa vascular periférica y está asociada con un aumento del tono vagal y disminución de la frecuencia cardiaca (Murrel y Hellebrekers 2005). En general existe una alta sensibilidad por los efectos

vasoconstrictores de los agonistas alfa-2 en especies como el perro, diferente a lo que ocurre en humanos, donde se ha demostrado que la dexmedetomidina ejerce un efecto bifásico sobre la presión arterial, caracterizado por una vasoconstricción inicial, seguido de vasodilatación e hipotensión, la cual es considerada como el efecto hemodinámico más relevante (Khan et al., 1999; Seyrek et al., 2011). Las características de los cambios en la presión sanguínea resultan dosis-dependientes donde se ha visto que a dosis elevadas se origina hipertensión de larga duración con incremento persistente en la resistencia vascular sistémica (Kuusela et al., 2000).

Algunos estudios en humanos, han demostrado que la dexmedetomidina causa cambios mínimos sobre la función respiratoria (Mato et al., 2002). Sin embargo, la PaCO<sub>2</sub> podría incrementarse y el pH disminuir significativamente (Hiscox, 2012). En un estudio, los cambios respiratorios ocasionados por la dexmedetomidina no tuvieron diferencias significativas con el grupo placebo, al contrario de otro grupo que recibió morfina (Khan et al., 1999). Por otro lado, en gatos, a dosis normales la dexmedetomidina no reduce la frecuencia respiratoria cuando se usa sin combinación (Selmi et al., 2003). El mecanismo mediante el cual la dexmedetomidina afecta la función respiratoria no está del todo dilucidado y los estudios y reportes son objeto de debate. La depresión respiratoria puede ser el resultado del mismo efecto sedante de la dexmedetomidina, y se cree firmemente que los efectos sobre la función van directamente ligados a los efectos sobre el sueño producidos en el locus ceruleus (Mato et al., 2002). Pese a que sus efectos sobre el sistema ventilatorio no son muy marcados, una dosis baja de dexmedetomidina puede deprimir la respiración en pacientes debilitados. Sin embargo, esa misma dosis puede no representar un problema en pacientes jóvenes y sanos (Khan et al., 1999). De otro lado, la combinación de dexmedetomidina con analgésicos opioides puede reducir significativamente la frecuencia respiratoria (Sinclair, 2003).

Se han publicado escasos reportes científicos sobre los efectos respiratorios tras la administración de dexmedetomidina en los conejos. Sin

embargo, en esta especie se ha determinado hasta ahora que existe una reducción de la frecuencia respiratoria que tiende a ser dosis-dependiente, en un rango de 1–30 µg/kg. La disminución de la frecuencia respiratoria fue más profunda a 30 µg/kg que en el volumen tidal; así mismo, la reducción en el volumen minuto puede ser causado por el cambio en la frecuencia respiratoria. Nishida et al., (2002), sugieren que la dexmedetomidina en conejos a dosis altas, deprime tanto la frecuencia respiratoria como el volumen tidal, siendo los efectos sobre la frecuencia mucho más pronunciados. Sin embargo, concluyen que la dexmedetomidina no indujo variaciones importantes en la PaO<sub>2</sub> o PaCO<sub>2</sub> en conejos. Estos autores no describen una relación dosis-dependiente importante en cuanto a los efectos sobre el sistema respiratorio de la dexmedetomidina.

#### **2.2.1.1.2 Otros efectos**

La dexmedetomidina ha mostrado en animales cierto papel neuroprotector, cuyo mecanismo no se conoce bien, proponiéndose que esto pueda deberse a la disminución de la liberación de noradrenalina sistémica y/o intracerebral (Jolkkonen et al., 1999). Se ha sugerido que el efecto metabólico cerebral o cerebrovascular de la dexmedetomidina puede contribuir, en parte, a dicha acción neuroprotectora (Iida et al., 2006).

Al igual que sus congéneres, la dexmedetomidina disminuye la liberación de insulina, estimula la diuresis y origina poliuria; igualmente, puede disminuir la motilidad intestinal, posiblemente debido a la inhibición localizada de la liberación de acetilcolina. Así mismo, puede producirse hipotermia, vómitos (no en conejos), y ocasionalmente temblores musculares. En más raras ocasiones, se pueden producir cambios transitorios en los niveles hormonales de la hormona del crecimiento, testosterona, prolactina y hormona folículo estimulante. En ratas se ha visto disminución de la secreción gástrica (Meyer y Fish, 2008).

## 2.3 ANESTESIA

La anestesia en el sentido estricto de la palabra significa insensibilidad, y se usa para describir la pérdida de sensación de todo o alguna parte del cuerpo (Thurmon y Short, 2007). En anestesiología veterinaria se trata de un estado de inconsciencia e insensibilidad, obtenida con fármacos que actúan sobre el sistema nervioso central (Sumano y Ocampo, 2006a) con el fin de hacer posible la realización de intervenciones quirúrgicas cruentas o para realizar procedimientos terapéuticos o maniobras diagnósticas con capacidad para producir dolor (Vives et al, 1992). Así mismo, dentro del concepto de anestesia existen varias clasificaciones según la vía de administración (inyectable o inhalatoria), según el fármaco o combinaciones de fármacos y su forma de administración, según la profundidad producida, etc. Al igual que en el caso de los tranquilizantes, existe un gran número de agentes anestésicos, tanto inyectables como inhalados; para el interés del presente trabajo se hablará exclusivamente de los anestésicos esteroides.

### 2.3.1 Anestésicos neuroesteroides

Los neuroesteroides se definieron inicialmente como hormonas sintetizadas localmente dentro del tejido nervioso. Subsecuentemente, se describieron como derivados hormonales esteroideos que carecen de acción hormonal, pero que aún así afectan la excitabilidad neuronal a través de la modulación de receptores ionotrópicos (Borowicz et al., 2011)

Los neuroesteroides son importantes moduladores en una gran variedad de funciones fisiológicas y patológicas (Mensah-Nyagan et al., 1999; Melcangi et al., 2008). Alteran la transmisión sináptica mediante la interacción con receptores ionotrópicos y/o dependientes de canales de calcio (Ca<sup>2</sup>) o potasio (K), así como también mediante vías de segundo-mensajero (Belelli and Lambert, 2005).

Las propiedades analgésicas de los neuroesteroides tanto endógenos como de sus derivados sintéticos, han sido reconocidas en una gran variedad de estudios comportamentales. Por ejemplo, la percepción del dolor durante varios estados del ciclo estral, preñez, y la administración de neuroesteroides, ha mostrado fluctuar con el alto nivel de analgesia visto cuando los niveles plasmáticos de progesterona y sus metabolitos son altos y estables (Frye et al., 1993; Martinez-Gomez et al., 1994; Ratka y Simpkins, 1991). Así mismo, cuando fisiológicamente existen elevados niveles de neuroesteroides (por ejemplo durante la preñez), hay un incremento en la sensibilidad a la administración exógena de analgésicos, sugiriendo que los esteroides neuroactivos son potentes moduladores de la percepción del dolor (Gintzler y Liu, 2001).

La potenciación GABAérgica parece ser particularmente importante en la modulación del dolor. Por ejemplo, la 5 $\alpha$ -pregnan-3 $\alpha$ -ol-20-ona (THP o 3 $\alpha$ 5 $\alpha$ P), el metabolito reducido 5 $\alpha$  de la progesterona, el cual es un potente agente GABAérgico que carece de una alta afinidad por los receptores intracelulares de la progestina, es también un analgésico esteroide endógeno muy potente (Jevtovic-Todorovic et al., 2009), sugiriendo que los neuroesteroides como agentes antinociceptivos endógenos, podrían ser de beneficio terapéutico para el manejo del dolor (Belelli y Lambert, 2005).

Existen evidencias que señalan que las benzodiazepinas, el propofol y los neuroesteroides y sus análogos sintéticos relacionados (esteroides neuroactivos), tales como la alfaxalona, pueden inducir analgesia a través de su afinidad por el receptor GABA<sub>A</sub>. La antinocicepción mediada por el GABA<sub>A</sub>, fue demostrada en ratas, después de la administración intratecal de dos esteroides neuroactivos sintéticos hidrosolubles, desarrollados como anestésicos, el ORG20380 y el ORG20549 (Goodchild et al., 2000). Esta actividad era dosis-dependiente y se bloqueaba mediante la bicucilina (Johnston, 1996). Así mismo, la administración intravenosa de una dosis suficiente de ORG20549 para inducir anestesia, también indujo

antinocicepción preventiva, medida después de la recuperación de los reflejos.

De otro lado, a los neurosteroides se les ha adjudicado una gran capacidad neuroprotectora, los cuales logran exhibir estos efectos tanto a nivel central como periférico. Dichos mecanismos neuroprotectores atenúan la toxicidad excitatoria, el edema cerebral, los procesos inflamatorios, el estrés oxidativo y la degeneración neural. Adicionalmente, los neuroesteroides aceleran y promueven la regeneración y la mielinización. Los resultados prometedores en estudios preclínicos, llevan a los investigadores a pensar en los posibles beneficios de los neuroesteroides en el tratamiento de un amplio rango de enfermedades, especialmente en el trauma cerebral y espinal, ataques, Parkinson y Alzheimer, o epilepsia en humanos (Shumacher et al, 2004).

Desafortunadamente la aplicación terapéutica de los neuroesteroides naturales se encuentra limitada debido a su rápida biotransformación (Borowicz et al., 2009), y esto ha dado pie al desarrollo de neuroesteroides sintéticos que tengan una biodisponibilidad más larga, como es el caso de la alfaxalona y la ganaxolona; el primero, como anestésico general, y el segundo como agente antiepiléptico, siendo el fármaco más representativo de una nueva generación de agentes anticonvulsivantes en humanos (Borowicz et al., 2011).

De esta manera, en el ámbito veterinario se desarrolló un anestésico neuroesteroide inyectable, que se registró inicialmente para su uso en gatos, denominado comercialmente como Saffan®. Dicho producto contenía dos agentes anestésicos esteroides, la alfaxalona y la alfadolona acetato. En humanos (conocido como Altesin®), el fármaco producía taquipnea tras su administración, y apnea cuando ocurría sobredosificación (Dye y Watkins, 1980). Igualmente, se reportó la presencia de edema en orejas, y almohadillas, tras su administración en gatos, así como también edema laríngeo y pulmonar. Los efectos adversos en esta especie parecían ser debidos a la liberación de histamina o sustancias relacionadas,

causadas por el agente solubilizante Cremofor EL, un derivado de aceite de ricino usado en la formulación. Dichos efectos adversos podían llegar a ser tan severos que lograban incluso desembocar en el fallecimiento, a pesar de que las reacciones adversas parecían ser raras. Igualmente, el Saffan® también podía llegar a producir una depresión marcada sobre la función cardiopulmonar, también en gatos (Woodward, 2005).

Además de primates, varios estudios realizados en conejos, ratones, ratas, cobayas, cerdos neonatos, hámsteres, y hurones, demostraron un alto nivel de seguridad como anestésico en estos animales que comúnmente son usados para estudios de laboratorio (Meyer y Fish, 2008). Los efectos positivos que más se remarcaron fueron el no desarrollo de tolerancia y de acumulación. Dentro de los efectos de la combinación de alfaxalona/alfadolona en conejos, destacaban una buena sedación y pérdida de reflejos, con un pobre grado de analgesia y respiración severamente deprimida cuando se usaban dosis elevadas (Flecknell, 1996). Además, se observó en algunos casos que era posible observar sus efectos tras la administración de esta combinación por vía intramuscular, aunque en muchas ocasiones estos efectos no se daban o eran menos predictivos, probablemente por la característica hidrofóbica del cremofor EL, que era el vehículo de este compuesto; así mismo, el alto volumen a administrar hacía impensable la administración en ratones y hámsters (Green, 1975). Por otro lado, la administración por vía intraperitoneal mostró mejores efectos que los vistos tras la administración por vía intramuscular, aunque no se obtuvieron datos acerca de su biotransformación (Green et al., 1978).

### 2.3.1.1 ALFAXALONA

Este neuroesteroide formaba parte de un agente anestésico esteroide comercializado junto con la alfadolona (Saffan®). Como se ha comentado anteriormente, ésta combinación tenía como excipiente el cremofor EL, al que se le atribuyeron gran cantidad de reacciones adversas que hicieron que fuese retirado del mercado (Whittem, 2006).

Posteriormente con el desarrollo de la 2-hidroxiopropil-beta-ciclodextrina, un agente solubilizador, se propició la reintroducción de la alfaxalona en el mercado.

Las ciclodextrinas emergieron como unos compuestos aditivos muy efectivos para solubilizar algunas drogas hidrofóbicas. En la forma parenteral de administración, las ciclodextrinas modificadas tales como la hidroxilpropil- $\beta$ -ciclodextrina y la sulfobutileter-  $\beta$ -ciclodextrina han mostrado solubilizar y estabilizar muchas drogas inyectables, incluyendo la dexametasona, el estradiol, la interleuquina 2 y otras proteínas y péptidos sin aparentes problemas de incompatibilidad. Aún son pocos los productos aprobados que contienen ciclodextrinas; sin embargo, basándose en la literatura y las comunicaciones científicas, seguramente habrán muchas formulaciones inyectables que contengan ciclodextrinas en el futuro (Akers, 2002).

Las ciclodextrinas son oligómeros derivados cíclicos de la amilasa, que son producidos mediante la degradación bacteriana del almidón, creando una molécula en forma de cono, con un centro hidrofóbico y un exterior hidrofílico. El uso de la 2-hidroxiopropil-beta-ciclodextrina incrementa unas 375 veces la solubilidad de la alfaxalona, y por sí misma, tiene una dosis letal en perros de más de 5000 mg/Kg (Brewster et al., 1990). Tanto la alfaxalona como la 2-hidroxiopropil-beta-ciclodextrina se combinaron entonces para finalmente dar paso a un compuesto anestésico esteroide denominado Alfaxan®; así pues, la alfaxalona ha sido reformulada al 1 %, y comercializada como una solución acuosa y clara (Muir et al., 2009). Esta nueva formulación de la alfaxalona no induce liberación de histamina (Tamura et al., 2015), como sí lo hacía su predecesora. Dicho compuesto se ha introducido en el mercado veterinario hace ya varios años en Australia y otros países, y rápidamente ganó gran aceptación.

El principal mecanismo de acción mediante el cual la alfaxalona ejerce su acción anestésica, es a través de la modulación del transporte de cloro en la membrana celular neuronal, el cual resulta en hiperpolarización e

inhibición de la propagación potencial. Dicho mecanismo se produce a través de la unión de la alfaxalona al receptor GABA<sub>A</sub> (Murrell, 2009). La alfaxalona ha mostrado tener un buen margen de seguridad, siendo la dosis letal unas 10 veces superior a la dosis recomendada para la inducción en el perro. En los gatos, éste margen es un poco menor, mostrando seguridad hasta 5 veces la dosis recomendada para producir anestesia (Zaki et al., 2009). Al igual que otros agentes inyectables, la dosis varía en función de cada caso y técnica anestésica utilizada. El fármaco debe inyectarse lentamente, aconsejándose aproximadamente un minuto (Kästner, 2007), y preferiblemente a través de un catéter intravenoso. La forma calmada y relajada en la cual los animales reaccionan a su administración, es sin duda la característica más llamativa para el nuevo usuario; tras la inducción, las membranas mucosas generalmente permanecen rosadas. Así mismo, la taquicardia transitoria refleja como respuesta a la vasodilatación periférica producida por todos los agentes inductores no es bloqueada por la administración de la alfaxalona (Jones, 2012), como sí lo pueden hacer otros agentes, principalmente el propofol. La depresión respiratoria ocasionada puede minimizarse o eliminarse enlenteciendo la administración y realizando una inducción a dosis-efecto (Murrell, 2009).

La alfaxalona parece metabolizarse rápidamente en el hígado en la mayoría de las especies, con una corta vida media y una depuración dosis-dependiente (Jones, 2012). Estudios in vitro en hepatocitos de perro y gato han mostrado que la alfaxalona experimenta 2 fases de metabolización: una citocromo P450 dependiente y otra conjugación dependiente. En perros y gatos se forman los mismos metabolitos de alfaxalona en la fase citocromo P450 dependiente. Los metabolitos de la fase conjugación dependiente observados en el gato son el sulfato de alfaxalona y el glucurónido de alfaxalona, mientras que en el perro se detecta solo glucurónido de alfaxalona (Warne, 2013). La unión a proteínas plasmáticas suele estar sobre un 40 %; la excreción, al igual que sus congéneres es rápida, aunque por vía fecal puede persistir durante varios días, sugiriendo que existe circulación enterohepática de metabolitos esteroideos (Meyer y Fish, 2008). En perros y gatos la eliminación de la alfaxalona demuestra una

farmacocinética no-lineal (dosis-dependiente). Estudios en humanos y ratas demuestran que los metabolitos de la alfaxalona se excretan principalmente por la orina, y una pequeña cantidad por la bilis. Es probable que estas mismas vías de eliminación sean utilizadas en los perros y los gatos, dado que los metabolitos producidos son similares (Warne, 2013).

A dosis recomendadas para la inducción y el mantenimiento anestésico, ni en la farmacocinética ni en la farmacodinamia ha sido evidente la acumulación. Los parámetros cardiovasculares y respiratorios evaluados a las dosis recomendadas por el fabricante, son remarcadamente estables; a dichas dosis, ésta formulación de la alfaxalona (con ciclodextrina como vehículo), provee anestesia predecible en el gato (Whittem et al., 2008). La alfaxalona en esta especie tiene una farmacocinética no lineal; sin embargo, en gatos que han recibido dosis secuenciales de mantenimiento, una línea de regresión a través de su pico de concentración plasmática indicó que no existe acumulación farmacocinética relevante clínicamente (Whittem et al., 2008). La depuración de la alfaxalona es rápida, y así se ha demostrado en otras especies como perros (Ferré et al., 2006) y caballos (Goodwin et al., 2011).

Debido a que es un compuesto esteroide derivado de la progesterona y su eliminación fundamentalmente es por vías metabólicas, el metabolismo sexo-dependiente podría mostrar algunas diferencias entre machos y hembras. En humanos, las mujeres suelen recuperarse más rápido que los hombres de la anestesia, lo cual podría explicar que existe un efecto de hormonas esteroides en las vías metabólicas; esto mismo ocurre cuando el anestésico usado ha sido propofol (Ferré et al., 2006). En animales no se han realizado suficientes estudios in vivo que demuestren que esto ocurre al igual que en los humanos. Sin embargo, en un estudio sobre la farmacocinética y la farmacodinamia de la alfaxalona en perros realizado por Ferré et al., (2006), no observaron diferencias entre sexos en los individuos objeto del estudio.

El Alfaxan® ha mostrado ser seguro cuando es usado en combinación con diversos agentes preanestésicos, como opioides (morfina, metadona, butorfanol, buprenorfina), agonistas alfa-2 (xilacina, medetomidina), benzodiazepinas (midazolam, diazepam), anticolinérgicos (atropina), fenotiacinas (acepromacina), y analgésicos no esteroides (carprofeno, meloxicam) (Jones, 2012).

### **2.3.1.1.1 Efectos cardiovasculares y respiratorios**

Los efectos de los fármacos anestésicos sobre la función cardiovascular son frecuentemente evaluados mediante la valoración de la frecuencia cardíaca y el ritmo, la presión arterial y el gasto cardíaco. El gasto cardíaco depende de la frecuencia cardíaca, el retorno venoso (precarga), la impedancia vascular (resistencia+reactancia; postcarga), y la fuerza contráctil. Incrementos en la frecuencia cardíaca, la fuerza contráctil y la disminución en la postcarga, resulta en un gasto cardíaco incrementado. Se ha visto que tras la administración IV de alfaxalona no se altera o apenas existen cambios sobre el gasto cardíaco; esto puede deberse probablemente al incremento transitorio de la frecuencia cardíaca y a la pequeña disminución de la resistencia vascular periférica (postcarga disminuida), secundaria a vasodilatación periférica (Muir et al., 2008). La alfaxalona se caracteriza fundamentalmente por deprimir escasamente la función cardiovascular. En perros aún cuando a dosis altas puede deprimirse la función respiratoria y ventilatoria, la presión arterial se mantiene dentro de los rangos normales y sus valores son clínicamente aceptables (Tamura et al., 2015).

La depresión respiratoria y la apnea son efectos frecuentes tras la administración de la mayoría de anestésicos generales (tiopental, propofol, ketamina). Dichos efectos respiratorios han sido relacionados con depresión anestésica de la corteza y del tallo cerebral, concentración aumentada del GABA y disminución de las cantidades de neurotransmisores excitatorios glutamato en el sistema nervioso central.

Muir et al., (2008) demostraron que apenas existen cambios en la frecuencia respiratoria tras la administración de alfaxalona por vía IV a dosis normales, así como efectos variables sobre el volumen tidal y una disminución en el volumen minuto. A dosis normales, no ocurre apnea y la PaCO<sub>2</sub> no cambia, aunque los valores de PaO<sub>2</sub> disminuyan a niveles que podrían considerarse como hipoxémicos, durante el primer minuto. Por otra parte, dosis elevadas de alfaxalona IV producen depresión respiratoria con disminución de la frecuencia respiratoria y el volumen minuto y una incidencia incrementada en la aparición de apneas; así mismo, el incremento en la PaCO<sub>2</sub> y la disminución de la PaO<sub>2</sub> pueden ser muy aparentes. Aunque tras la administración de dosis anestésicas proporcionales de otros agentes anestésicos inyectables, existe depresión respiratoria, parece que la alfaxalona la deprime en menor medida (Muir et al., 2008); no obstante, hacen falta estudios más profundos que así lo corroboren.

En estudios realizados en perros, a dosis de 10 mg/kg por vía intramuscular (aproximadamente 5 veces la dosis recomendada por vía intravenosa), la alfaxalona produjo una hipoxemia clínicamente relevante (SpO<sub>2</sub> del 75 al 89 %) en 2 de 6 animales, a los 10 y 20 minutos postadministración. Igualmente, a dosis de 7,5 mg/Kg (2 animales) y a 5 mg/kg (1 animal), mostraron hipoxemia transitoria a los 10-15 minutos postadministración. Por otro lado, la ETCO<sub>2</sub> durante la intubación después de una dosis intramuscular de 10 mg /kg fue notablemente más alta que la mostrada a dosis de 7,5 mg /kg (Tamura et al., 2015). Así mismo, otro estudio realizado por Maney et al. (2013) mostró que la condición cardiorrespiratoria se mantuvo estable a dosis de (2.6 ± 0.4 mg/kg IV), lo que parece indicar que la depresión respiratoria causada por la administración de alfaxalona es dosis-dependiente. En estos estudios, la hipoxemia originada estaba íntimamente relacionada con la disminución de la frecuencia respiratoria. Igualmente Muir et al, (2008), demostraron que tras la administración IV de 6 mg/kg de alfaxalona, se originaba hipoxia relacionada con hipoventilación, ocasionada fundamentalmente por la disminución de la frecuencia respiratoria de carácter dosis-dependiente, y

por la apnea transitoria. De esta manera, y como ya se ha demostrado en diversos estudios, es altamente recomendable realizar una preoxigenación de los pacientes antes de la administración de cualquier anestésico general (Tamura et al., 2015).

#### **2.3.1.1.2 Otros efectos**

La recuperación anestésica con la alfaxalona puede llegar a ser brusca en algunas especies, pudiendo manifestarse signos indeseables como pedaleo, espasmos musculares, o incluso movimientos violentos (Tamura et al., 2015; Jiménez et al., 2012). Algunos animales pueden manifestar hipersensibilidad a estímulos externos (Grubb et al., 2013), siendo de gran ayuda un entorno oscuro y tranquilo para que la recuperación sea más relajada. La administración de agentes preanestésicos adecuados puede reducir significativamente la incidencia de este tipo de eventos durante este periodo (Jones, 2012).

## **2.4 CONCEPTOS FARMACOLÓGICOS**

### **2.4.1 Farmacodinamia**

La farmacodinamia estudia el mecanismo intrínseco mediante el cual los fármacos logran inducir su acción en el organismo (Sumano y Ocampo, 2006b), es decir, “lo que el fármaco hace al organismo” (Rang y Dale, 2008). En anestesiología, el análisis farmacodinámico de los tranquilizantes, sedantes o anestésicos, va encaminado a la valoración de los efectos cardiovasculares, respiratorios, y el grado en el nivel de sedación o anestesia. Además, se suelen registrar los efectos indeseables o colaterales, la calidad y velocidad de la recuperación, y la duración del efecto del fármaco.

### 2.4.2 Farmacocinética

Se entiende por farmacocinética como la descripción matemática de los cambios de concentración que experimentan los fármacos en el organismo (Baggot, 1977). En otras palabras, se refiere a “lo que el organismo hace con el fármaco” (Rang et al., 2008). De esta manera, se estudian las características de la evolución temporal del fármaco, es decir, su absorción, distribución, metabolismo y excreción (Brown, 2003).

Al realizar estudios farmacocinéticos se analizan una serie de parámetros para determinar los cambios que sufre el fármaco una vez entra en el organismo. Los parámetros que se tienen en cuenta en el presente trabajo son los siguientes:

- **F:** Biodisponibilidad: Se refiere a la fracción de la dosis administrada que llega intacta a la circulación sistémica. En algunas ocasiones se refiere a la cuantía de la absorción del fármaco.
- **t<sub>1/2</sub>**: Vida Media: Tiempo de vida media de la fase de disposición lenta. Se define como el tiempo preciso requerido para que el organismo elimine la mitad del fármaco.
- **AUC:** Área Bajo la Curva: Se obtiene al relacionar la concentración del fármaco en plasma con el tiempo, después de una administración única.
- **VdAUC:** Volumen de distribución: Calculado según AUC, se refiere a la cantidad de fluido extraplasmático necesario para diluir el medicamento a la misma concentración que la existente en el plasma.
- **Vss:** Volumen en estado estacionario: El estado de equilibrio o estado estacionario se alcanza cuando la velocidad de administración del fármaco iguala a la velocidad de eliminación del mismo. El volumen incluye los volúmenes plasmáticos y tisulares en que se distribuye el fármaco y el grado de unión a proteínas en dichos espacios.

- **Cl:** Aclaramiento: podría definirse como el volumen de plasma libre de fármaco por los diversos procesos de eliminación por unidad de tiempo. Se suele expresar en (mL/min)/kg.
- **Tmax:** Tiempo máximo: Tiempo al que se alcanza la máxima concentración en el humor o tejido en que se midan las concentraciones.
- **Cmax:** Concentración máxima: La máxima concentración obtenida en el humor o tejido en que se midan las concentraciones del fármaco.
- **MRT:** Tiempo medio de permanencia: es definido como el tiempo promedio en el que la molécula intacta transita o reside en el organismo.

Cuando los parámetros farmacocinéticos de un fármaco (ej: el aclaramiento y el volumen de distribución) son dosis dependientes, se dice que son lineales; cuando esto ocurre, a medida que la dosis se incrementa, la concentración plasmática y el área bajo la curva se incrementan proporcionalmente con la dosis. Por el contrario, en el caso de farmacocinéticas no lineales, los efectos de los fármacos y la persistencia no son predecibles a diferentes dosis, y la variabilidad entre individuos puede ser mayor que la esperada en los fármacos con comportamientos farmacocinéticos lineales (Warne et al., 2015).

## 2.5 MONITORIZACIÓN

La anestesia, a pesar de ser un proceso controlado y que se debe realizar bajo una planificación adecuada, es un procedimiento de riesgo bajo el cual se compromete la homeostasis del paciente. Las crisis o complicaciones anestésicas son impredecibles y suelen producirse rápidamente y muchas veces de forma devastadora. El propósito de la monitorización por tanto, es aportar la máxima seguridad y poder anticiparse a estas complicaciones si es posible, para actuar con prontitud y maximizar la seguridad anestésica (Haskins, 2007). Se entiende por

monitorización anestésica al acto médico en el que se constatan determinados signos vitales de forma regular, a lo largo del periodo pre, trans y postanestésico (Vives y Usón, 1992).

### **2.5.1 Frecuencia cardiaca**

En ausencia de hemorragia, hipotermia, hipertermia, efectos de fármacos y reflejos vasovagales u oculocardiacos, tras un estímulo quirúrgico se pueden alterar notablemente los parámetros basales cardiorrespiratorios a través de una respuesta autonómica a dicho estímulo (Smith y Danneman, 2008). En el marco de la anestesia y la cirugía experimental, se dice que la abolición de la respuesta autonómica es suficiente para asegurar que hay un adecuado plano de anestesia, mientras que la persistencia de respuestas autonómicas no necesariamente indica que el plano anestésico es inadecuado (Green, 1975).

En conejos, la frecuencia cardiaca puede ser monitorizada continuamente a través de un estetoscopio esofágico o mediante un monitor de electrocardiograma; intermitentemente se puede realizar a través de la auscultación directa con estetoscopio o mediante la palpación cardiaca a través de la pared torácica (Lipman et al., 2008).

### **2.5.2 Frecuencia respiratoria**

La monitorización de la frecuencia respiratoria en los conejos se puede realizar a través de la observación directa de la pared torácica, de los movimientos de los flancos en la región abdominal, mediante el uso de monitores adaptados al tubo endotraqueal, con estetoscopio esofágico, con neumotacómetros pediátricos, capnómetros/capnógrafos y con pletismógrafos en la pared torácica. La valoración del patrón respiratorio, la profundidad de la respiración y el esfuerzo respiratorio puede ser realizada mediante observación directa o a través del uso de neumotacómetros con circuitos integradores que miden el flujo respiratorio, el volumen tidal y la ventilación por minuto (Lipman et al., 2008).

### **2.5.3 Presión arterial**

La presión arterial en los conejos puede medirse directamente (invasiva) a través del cateterismo arterial, o bien indirectamente (no invasiva) mediante el uso de la monitorización Doppler o métodos oscilométricos con manguitos adaptados para el tamaño de sus miembros. El principal inconveniente de las técnicas no invasivas es la intermitencia de la información obtenida, y muchas veces de la subjetividad o directamente de la ausencia de mediciones, debido al pequeño tamaño de los miembros del animal. De otro lado, la monitorización invasiva mediante el cateterismo arterial, tiene la ventaja de proporcionar una respuesta rápida a los cambios de presión y de realizar mediciones precisas en un amplio rango de presiones sanguíneas (Flecknell, 1996). En un estudio que comparaba los dos métodos (directo e indirecto), la presión arterial directa (medida en la arteria auricular central) se correlacionó perfectamente con los valores de la presión aórtica; esto no ocurrió con las mediciones tomadas de forma indirecta a través de los miembros; de esta manera, se consideró que la correlación entre el método indirecto y la presión aórtica es “moderada” (Ypsilantis et al., 2005). La frecuencia del pulso y el carácter puede valorarse mediante la palpación de la arteria safena, arteria carótida, arteria femoral, o a través del uso de monitores de presión directa. La presión del pulso y su carácter pueden valorarse visualizando directamente algún lecho vascular tras la exploración quirúrgica (por ejemplo, durante una laparotomía) (Lipman et al., 2008).

### **2.5.4 Pulsioximetría**

Los pulsioxímetros son instrumentos que miden el porcentaje de saturación de hemoglobina con O<sub>2</sub> (SPO<sub>2</sub>) en sangre arterial, detectando cambios en la absorción de luz a través de los tejidos. Además de medir la saturación de hemoglobina con oxígeno, el pulsioxímetro mide la naturaleza pulsátil de la señal, y partir de ésta, la frecuencia cardiaca (Flecknell, 1996). Existen varias condiciones que pueden alterar erróneamente los valores de la oximetría. Por ejemplo, y debido a que el pulsioxímetro depende de una

buena perfusión periférica, estados de hipotensión o hipotermia podrían alterar los valores. Igualmente, el propio movimiento del animal, temblores o incluso factores lumínicos externos como lámparas o luces fluorescentes, también podrían afectar sus valores (Smith y Danneman, 2008). En los conejos, los pulsioxímetros pediátricos pueden ser de utilidad. Los dedos y en especial la lengua son los sitios más comúnmente usados. Las sondas posicionadas en las orejas pueden dar lecturas falsamente bajas con algunos anestésicos (Orr et al., 2005).

### **2.5.5 Fracción espirada de CO<sub>2</sub>**

Una indicación del intercambio de dióxido de carbono puede obtenerse mediante la monitorización de la concentración de CO<sub>2</sub> presente en el gas exhalado (ETCO<sub>2</sub>), utilizando un capnómetro/capnógrafo. La máxima concentración detectada, la concentración tidal final, refleja la concentración de dióxido de carbono presente en el gas alveolar (Smith y Danneman, 2008). La monitorización con el capnógrafo es útil igualmente para valorar mediante el diagrama de la onda, cómo cambia la concentración de dióxido de carbono durante el ciclo respiratorio. Lo más habitual es que la sonda que recibe el flujo espiratorio esté unida al tubo endotraqueal.

### **2.5.6 Temperatura**

La hipotermia en los conejos puede alterar la depuración metabólica de los anestésicos inyectables y disminuir la CAM de los agentes anestésicos inhalados. La temperatura rectal puede medirse intermitentemente o de forma continua con cualquier termómetro adaptado para tal fin. La termometría esofágica con sonda, puede provocar menos variabilidad que la termometría rectal y puede ser de utilidad en la monitorización de la temperatura de forma continua (Flecknell, 1996).

Los conejos deben aislarse de las superficies frías cuando son anestesiados, a través de paños, aislantes u objetos similares. La suplementación de calor se puede ofrecer mediante mantas térmicas, bolsas de agua caliente, lámparas de calor y a través del calentamiento de fluidos tanto intravenosos como para irrigación (Lipman et al., 2008).

### 2.5.7 Gases arteriales

En la monitorización anestésica, la determinación y valoración de los gases sanguíneos o comúnmente conocidos como gases arteriales, son de utilidad para la determinación del pH y de los gases implicados en el equilibrio ácido-base. Permite por tanto identificar y diferenciar entre alteraciones de origen respiratorio y/o metabólico.

La toma de la muestra en conejos se realiza a través de la arteria auricular central de la oreja. Se utilizan jeringas heparinizadas teniendo en cuenta que una excesiva dilución de la muestra con el anticoagulante podría disminuir el pH, la PaCO<sub>2</sub> y los bicarbonatos. Una vez extraída la muestra debe ser tratada anaeróbicamente; debe ser eliminada cualquier burbuja de aire presente y de ser posible, procesarla inmediatamente. Cualquier retraso en el procesamiento de la muestra y su conservación a temperatura ambiente, puede generar variaciones considerables en los resultados (Cerón, 2015; Kuehn y Gordon, 2012; Flecknell, 1996). Los siguientes parámetros son los más comúnmente evaluados:

- **pH:** es la expresión logarítmica de la concentración de hidrógeno (H<sup>+</sup>) de la sangre y representa el balance entre los ácidos y bases producidas durante el metabolismo.
- **PaO<sub>2</sub>:** se trata del oxígeno disuelto en sangre; también conocido como presión parcial arterial de O<sub>2</sub>. Es útil para valorar la capacidad pulmonar de oxigenación hemática. Sus valores

dependen de la capacidad ventilatoria y de la difusión y perfusión pulmonar.

- **PaCO<sub>2</sub>**: es la presión parcial arterial de CO<sub>2</sub> disuelta en sangre y representa el componente respiratorio del equilibrio ácido-base. Aunque está determinada por el balance entre producción tisular y pérdidas ventilatorias, la ventilación pulmonar es quien más influye en éste parámetro, por tanto su valoración es un método eficaz para valorar la ventilación pulmonar.
- **HCO<sub>3</sub>**: El bicarbonato, valora el componente metabólico del equilibrio ácido-base.
- **ABE**: o Exceso de Bases Arteriales. Es un parámetro que cuantifica todos los sistemas tampón del componente metabólico y elimina la influencia del componente respiratorio al mantener una PCO<sub>2</sub> constante en su medición. Varía solo en relación a alteraciones metabólicas de pH, y permite identificar situaciones de acidosis o alcalosis metabólicas.



### **3 MATERIAL Y MÉTODOS**



### 3.1 MATERIAL

#### 3.1.1 Material Animal

Para el desarrollo del presente trabajo se utilizaron 5 conejos hembras de raza Nueva Zelanda, con una edad promedio de  $1,2 \pm 0,2$  años y peso de  $4,3 \pm 0,5$  kg. Estos animales fueron adquiridos a través de la Granja Experimental de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia. Los animales estaban sanos, y se encontraban estabulados en jaulas individuales en condiciones humanitarias, con acceso a luz ambiental y a la oscuridad, con una temperatura promedio de 22°C. Los animales tenían acceso permanente (ad libitum) tanto al agua como al alimento, el cual consistía en pienso peletizado, comercialmente diseñado para conejos. A pesar del carácter asustadizo, propio de la especie, se interaccionaba con ellos durante las semanas previas al inicio de los experimentos, con el fin de lograr una mejor adaptación y lograr posteriormente una manipulación más tranquila por parte de los investigadores.

#### 3.1.2 Material para farmacocinética y farmacodinamia

##### 3.1.2.1 MATERIAL FUNGIBLE

- Agujas hipodérmicas 21G y 23 G Braun®.
- Cánulas intravenosas INSYTE® (22G x 1, 0,8 x 25mm).
- Jeringuillas de 2 mL recubiertas con 75 USP de heparina sódica.
- Tubos de ensayo de varias capacidades.
- Micropipetas de varias capacidades.
- Puntas para micropipetas de varias capacidades.
- Matraces aforados de varias capacidades.
- Matraces Erlenmeyer de varias capacidades.
- Vasos de precipitado de varias capacidades.
- Viales con tapón para autoinyector 8 x 40, 1 mL, Wheaton.

- Filtros Millipore® tipo HV 0.45 µm de diámetro de poro.
- Tubos Eppendorf 1,5 y 2 mL.

### 3.1.2.2 PRODUCTOS Y REACTIVOS

- Agua bidestilada.
- Agua oxigenada.
- Clorhexidina solución (AGB).
- Hidróxido sódico (Scharlau).
- Dansilhidrazina (Lote: BCBG7669V, Sigma Aldrich)
- Diclorometano (Scharlau).
- Tampón acetato de amonio (Fluka).
- Heparina sódica 5% (ROVI).
- Acetonitrilo HPLC (Scharlau).
- Agua para HPLC (Scharlau).
- Alfaxan® (Laboratorios Vétoquinol)
- Alfaxalona (British Pharmacopoeia Chemical Reference Substance)
- Pregnenolona (Lote 031M1880V, Sigma-Aldrich)

### 3.1.2.3 APARATOS

- Agitador magnético SBS A-06.
- Agitador de tubos HeidolphReax 2000.
- Balanza de precisión Sartorius BP121S, pesada entre 0.0001 y 120 g.
- Centrifuga ALC modelo 4236.
- Congelador Sanyo MDF (- 45 °C).
- Sonicador Branson 2200.
- Bomba de vacío y equipo de filtración Millipore®.

- Frigorífico Electrolux® modelo ER 3818C.
- Ordenador personal.
- pHmetro CrisonDigit 501.
- HPLC compuesto de:
  - Bomba cuaternaria modelo LC-10Asvp (Shimadzu).
  - Detector de fluorescencia de modelo RF-10Axl (Shimadzu).
  - Autoinyector modelo SIL-10Advp (Shimadzu), con refrigeración por sistema Peltier.
  - Desgasificador DGU 14A (Shimadzu).
  - Módulo mezclador FCV-10AL-VP (Shimadzu).
  - Horno para columnas CTO-10 ASvp (Shimadzu) con rango de temperaturas 4-80° C.
  - PC con el programa Shimadzu Class-VP Chromatography Data System.
  - Columna en fase reversa XBridge C18 (3.5 µm; 100 mm x 4.6 mm, Waters)
  - Precolumnas con la misma composición que la columna.

#### 3.1.2.4 SOFTWARE INFORMÁTICO

- Programa de Análisis Farmacocinético Winnonlin Professional® 5.0.
- Programa de análisis farmacocinético MULTIFIT (PROOST, 1994).
- Paquete de análisis estadístico SPSS® versión 21.0, STATGRAPHICS® Plus versión 5.
- Programa de gráficos PRISM 3.0. para WINDOWS (GRAPHPAD SOFT. INC).
- Programa para simulación de estructuras químicas CHEMDRAW Ultra Versión 6.0. y CS CHEM3D STD.

- Procesador de textos Microsoft® Word 2003 y Hoja de cálculo Microsoft® Excel 2003.

### **3.1.3 Material de anestesia**

- Alfaxalona (10 mg/ml, Alfaxan®, Laboratorios Vétoquinol).
- Dexmedetomidina (0,5 mg/ml, Dexdomitor®, Orion Pharma).
- Heparina sódica (Heparina Hospira® 5%, Hospira productos farmacéuticos y hospitalarios S.L.)
- Aguja Sterican Braun® 23G x 1 0.60 x 25 mm.
- Jeringas Omnifix® - F 1 mL. Tuberculin 0.01 mL/1mL.
- Jeringas Omnifix® - F 3 mL. 0.01mL/ 3 mL.
- Jeringas Omnifix® - F 5 mL. 0.01mL/ 5 mL.
- Catéteres endovenosos 22 y 24 G Braun®.

### **1.1.1. Material de monitorización**

- Estetoscopio Littman®.
- Monitor respiratorio Ohmeda® 5250 RGM.
- Gas de calibración Ohmeda® (4% halocarbono-22, 6% dióxido de carbono, 40% óxido nitroso, 50% oxígeno).
- Monitor cardiovascular Cardiocap II. Datex-Ohmeda®.
- Línea de conexión al transductor Connecta® PE LINE M/F 200 cm. Ohmeda®.
- Transductor COMP DT-XX DTXPlus. Ohmeda®.
- Analizador de gases arteriales (Radiometer A/S-EMDRUPVEJ 72 DK-2400, Copenhagen-NV) – ABL 50 140R0079 N001.

## 3.2 MÉTODOS

### 3.2.1 Experiencia 1. Estudio farmacocinético y farmacodinámico

#### 3.2.1.1 DISTRIBUCIÓN DE LOS ANIMALES EN GRUPOS EXPERIMENTALES

Para esta experiencia, se contó con una población de 5 individuos (n=5). La distribución de los animales objeto del estudio y la metodología empleada, se resume en la tabla 1. Entre cada una de las las experiencias, se dio un periodo de descanso de 15 días con el fin de evitar interferencias. Siempre los animales fueron manipulados por los mismos investigadores. Para la ejecución de cada experiencia, se mantuvo a cada animal en ayuno de sólidos de 8 horas, sin restricción de líquidos.

**Tabla 1. Distribución de los animales en grupos experimentales en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica**

| GRUPO            | FÁRMACOS EMPLEADOS   |
|------------------|--|
| AMf<br>1 (n=5)   | Alfaxalona intramuscular                                       |
| AVf<br>2 (n=5)   | Alfaxalona intravenosa   |
| DMAMf<br>3 (n=5) | Dexmedetomidina intramuscular<br>+<br>Alfaxalona intramuscular |
| DMAVf<br>4 (n=5) | Dexmedetomidina intramuscular<br>+<br>Alfaxalona intravenosa   |

#### 3.2.1.2 PREPARACIÓN

Cada animal fue introducido en un box con guillotina (foto 1), con el fin de facilitar su manipulación. Así mismo, se dió un compás de espera de 5 minutos para que el animal entrase en estado de calma y reducir su estrés. Inmediatamente se procedía a rasurar ambas orejas con máquina eléctrica y

cuchilla específica para cirugía, para facilitar la identificación de las venas marginales izquierda y derecha. Estos vasos sanguíneos fueron los elegidos para la administración de la alfaxalona y la extracción de sangre para el estudio farmacocinético. Se introdujo un cateter No. 24 G en cada una de las venas, y posteriormente se fijó con pegamento quirúrgico a base de n-butil cianoacrilato y esparadrapo de tela. Después de esta manipulación, se dieron otros 5 minutos para la posterior calma del animal y así empezar con la experiencia.



**Foto 1.** Box con guillotina

### **3.2.1.3 TOMA DE MUESTRAS**

Previo a la manipulación de los animales para el registro de los parámetros fisiológicos basales, se tomó la muestra de sangre cero (basal). Además de la muestra basal o tiempo cero (0), se tomaron muestras a los minutos 2, 4, 6, 8, 10, 15, 30, 45, 60, 120, 240, 360 y 480 desde la administración de la Alfaxalona en los 4 grupos. La sangre se extrajo directamente a través del catéter intravenoso, obteniendo cada vez una cantidad de 1 mL., recogiéndose mediante jeringas heparinizadas y posteriormente trasvasándose a tubos eppendorf. A continuación, las muestras de sangre se sometían a centrifugación durante 10 minutos a 3000 rpm para separar el plasma. Una vez separado, éste se congelaba inmediatamente por duplicado a - 70°C, hasta el momento de realizar las determinaciones analíticas, cuyo procedimiento se comentará más adelante. Una vez extraída

la sangre se realizaba un lavado del cateter con 1 mL. de solución salina heparinizada, para evitar que la posterior toma de muestra tuviese trazas de la anterior.

#### 3.2.1.4 TÉCNICA ANALÍTICA

Las concentraciones de alfaxalona en plasma fueron determinadas mediante un método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) modificado del descrito por Visser et al. (2000).

Los componentes utilizados del equipo cromatográfico fueron los siguientes: una bomba cuaternaria modelo LC-10 ASvp, un detector de fluorescencia modelo RF-10Axl y un autoinyector modelo SIL-10 ADvp (Shimadzu). El mencionado equipo estaba conectado a un ordenador con el programa ShimadzuClass-VP Chromatography Data System para el procesamiento de los datos.

Para la extracción de alfaxalona del plasma, a 200  $\mu$ L de plasma se le añadieron 10  $\mu$ L del estándar interno (pregnenolona 50000  $\mu$ g/L; Sigma); tras agitación, se adicionaron 200  $\mu$ L de acetonitrilo para provocar la precipitación de las proteínas de la muestra y se procedió a agitar de nuevo durante 30 segundos. Tras centrifugar a 3500 revoluciones por minuto (rpm) durante 10 minutos, se recogió el sobrenadante y se transfirió a un tubo limpio al que se adicionaron 100  $\mu$ L de solución de dansilhidrazina y 200  $\mu$ L de NaOH 2M, agitándose la mezcla durante 30 segundos. Posteriormente se sometió de nuevo a centrifugación a 3500 rpm durante 60 segundos y se almacenó en condiciones de oscuridad y temperatura ambiental durante 20-24 horas. A continuación se añadieron 2 mL de NaOH 1 M y 2 mL de diclorometano y se agitó durante 30 segundos, seguido de centrifugación a 3500 rpm durante 15 minutos. La fase acuosa se eliminó mediante succión con micropipeta, y el remanente se eliminó mediante congelación. La fase orgánica se transfirió a tubos de cristal limpios y fue totalmente desecada bajo una suave corriente de nitrógeno en un sistema al

vacio. El residuo se disolvió en 250  $\mu$ L de fase móvil, de los que 50  $\mu$ L fueron inyectados en el sistema de HPLC.

La determinación cromatográfica se llevó a cabo en una columna C18 XBridge en fase reversa (3,5  $\mu$ m; 100 mm x 4,6 mm, Waters, Barcelona), con un volumen de inyección fijado en 50  $\mu$ L. Los viales del autoinyector y la temperatura de la columna se mantuvieron a 5°C. La fase móvil estaba constituida por acetonitrilo (52%) y tampón acetato amónico 25 mM (pH 3.7)(48%), usando un método isocrático y con una velocidad de flujo de 1.0 mL/min. El tiempo de retención de alfaxalona fue de aproximadamente 16 minutos y el de pregnenolona (patrón interno) de 23 minutos. La detección por fluorescencia se llevó a cabo a una longitud de onda de excitación de 332nm y de emisión de 516 nm.

#### **3.2.1.4.1 Validación de la técnica**

##### *3.2.1.4.1.1 Linealidad*

Las curvas de calibrado se prepararon con 7 concentraciones diferentes entre 10 y 1000  $\mu$ g/L usando plasma de conejos sanos sin tratamiento alguno. Las curvas estándar se obtuvieron por regresión lineal sin ponderación, del área de los picos obtenidos frente a concentraciones conocidas de alfaxalona. Cada punto se estableció de un promedio de seis determinaciones. El coeficiente de correlación (r) fue  $> 0,98\%$  para las curvas de calibrado.

Las soluciones estándar de alfaxalona se prepararon mediante diluciones seriadas en tampón fosfato hasta alcanzar concentraciones finales de 10, 25, 50, 100, 250, 500 y 1000  $\mu$ g/L. Los controles se prepararon a partir de un pool de blancos de plasma con cantidades conocidas de alfaxalona para alcanzar concentraciones similares. Las alícuotas de plasma se almacenaron a  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento. Las alícuotas de los estándares, controles y muestras fueron procesadas

como se describe anteriormente y se inyectaron 50  $\mu\text{L}$  en el sistema cromatográfico.

#### *3.2.1.4.1.2 Recuperación*

Los porcentajes de recuperación se determinaron comparando las áreas de los picos de los controles con las distintas concentraciones de fármaco, con las áreas de los picos de los estándares a las concentraciones correspondientes preparados con tampón fosfato. Cada punto se establece a partir de un promedio de seis determinaciones.

#### *3.2.1.4.1.3 Precisión*

La media ( $\pm$  SE) de las recuperaciones para el plasma, inter-día e intra-día, fueron de  $98,7 \pm 0,18$  y  $99,6 \pm 0,12$  %. La precisión del ensayo se evaluó expresando la desviación estándar relativa (RDS) como un porcentaje del valor medio. La precisión intra-día se estimó mediante el análisis, en el mismo día, de seis muestras repetidas de tres concentraciones estándar usadas para las curvas de calibrado ( $\text{RSD} < 8\%$ ). La precisión inter-día se estimó mediante el análisis de tres concentraciones estándar durante tres días consecutivos ( $\text{RSD} < 10\%$ ).

#### *3.2.1.4.1.4 Límite de cuantificación y detección*

El límite de detección de alfaxalona en plasma se ha establecido para la concentración más baja que se ha podido detectar diferenciándola del ruido de fondo del aparato. El límite de cuantificación se ha establecido para el nivel de concentración más bajo utilizado en las curvas de calibrado y para el que el RSD es menor al 15%. De esta forma, el límite de detección resulta ser de  $3,279 \mu\text{g/L}$  y el límite de cuantificación de  $10 \mu\text{g/L}$ .

### 3.2.1.5 ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO

#### 3.2.1.5.1 Análisis No Compartmental

Una vez obtenidas las concentraciones de alfaxalona en plasma a los diferentes tiempos de extracción tras las administraciones intravenosa e intramuscular, se han ajustado los datos a modelos no compartimentales. Los parámetros no compartimentales se calcularon de acuerdo con la teoría de los momentos estadísticos (Gibaldi y Perrier, 1982), utilizando el programa informático WinNonlin Professional<sup>®</sup> (versión 5.0). Para la administración intravenosa se utilizó el modelo 201 y para la administración intramuscular el modelo 200, de la biblioteca de modelos farmacocinéticos de dicho programa analítico. El área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo ( $AUC_{last}$ ) desde tiempo 0 hasta el último tiempo de muestreo experimental ( $t_{last}$ ) con concentraciones mensurables ( $C_{last}$ ) se estimó usando la aproximación lineal/logarítmica trapezoidal ( $AUC_{last}$ ). El área desde  $t_{last}$  a infinito se estimó como  $C_{est}/k_{el}$ , donde  $k_{el}$  representa la constante de la fase terminal de eliminación y  $C_{est}$  es la concentración estimada en el último tiempo, y sumada con  $AUC_{last}$  para dar una estimación del  $AUC_{0-\infty}$  total. El tiempo medio de absorción (MAT) se determinó también tras la administración intramuscular ( $MAT = MRT_{sc} - MRT_{iv}$ ) y la biodisponibilidad (F) que se ha calculado relacionando las áreas totales bajo las curvas de concentración plasmática obtenidas por el método trapezoidal, tras la administración extravascular (intramuscular) e intravenosa:

$$(F = (AUC_{sc}/D_{sc}) / (AUC_{iv}/D_{iv}) \cdot 100).$$

### 3.2.1.6 EJECUCIÓN DE LA SEDACIÓN/ANESTESIA

#### 3.2.1.6.1 Administración de los fármacos

Tras la comprobación del estado de calma de los animales, se controlaron los parámetros basales. En su orden, se controló primero la frecuencia respiratoria por observación directa de los movimientos del flanco y ollares, seguida de la frecuencia cardiaca que se verificó mediante la auscultación con estetoscopio. Posteriormente, se evaluó la postura espontánea, la respuesta al ruido, el tono muscular, la analgesia digital, la analgesia auricular y la anestesia quirúrgica. Como estas observaciones y manipulaciones son estresantes para el animal, se dio un compás de espera de 5 minutos para el inicio de la administración de los fármacos. En la tabla 2 se resumen la dosis y la metodología de la administración de los fármacos utilizados en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica.

**Tabla 2. Dosis y metodología de la administración de los fármacos en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica**

| <u>GRUPO</u> | <u>FÁRMACOS Y DOSIS</u>  | <u>MODO DE ADMINISTRACIÓN DE LA DEXMETETOMIDINA</u>   | <u>MODO DE ADMINISTRACIÓN DE LA ALFAXALONA</u>  |
|--------------|--|---|---|
| AMf          | Alfaxalona<br>(5 mg/Kg)  | -   | Inyección intramuscular profunda en el bíceps femoral   |
| AVf          | Alfaxalona<br>(5 mg/Kg)  | -   | Inyección intravenosa lenta en la vena marginal de la oreja (durante 1 minuto)  |
| DMAMf        | Dexmedetomidina<br>(0,1 mg/Kg)<br>+<br>Alfaxalona<br>(5 mg/Kg) | Inyección intramuscular profunda en el bíceps femoral | Inyección intramuscular profunda en el bíceps femoral del miembro contralateral, inmediatamente después de la Dexmedetomidina |
| DMAVf        | Dexmedetomidina<br>(0,1 mg/Kg)<br>+<br>Alfaxalona<br>(5 mg/Kg) | Inyección intramuscular profunda en el bíceps femoral | Inyección intravenosa lenta en la vena marginal de la oreja (durante 1 minuto), inmediatamente después de la Dexmedetomidina  |

### 3.2.1.6.2 Valoración del grado de sedación/anestesia

Para la evaluación del grado de sedación/anestesia (según el caso), se utilizó una escala de valoración subjetiva que incluyó: La postura espontánea, el tono muscular, la respuesta al ruido, la analgesia digital, la analgesia auricular, y la anestesia quirúrgica.

#### 3.2.1.6.2.1 Postura espontánea

Se definió como la postura adoptada por el animal de forma espontánea o ligeramente forzada. Este parámetro se evaluó de la siguiente manera:

0. Postura normal o en pie.
1. Signos suaves de sedación pero en pie o apoya miembros anteriores.
2. Decúbito esternal con cabeza arriba.
3. Decúbito esternal con cabeza abajo.
4. Decúbito lateral espontáneo o forzado, pero puede intentar incorporarse.
5. Decúbito lateral espontáneo o forzado, pero incapaz de incorporarse.

#### 3.2.1.6.2.2 Tono muscular

Se evaluó fundamentalmente mediante el grado de relajación mandibular y lingual y se valoró de la siguiente manera:

0. Normal. Incapacidad total para abrir la boca.
1. Ligeramente débil, no puede abrirse la boca o se hace con dificultad.
2. Débil, se puede abrir la boca pero puede intentar cerrarla.
3. Muy débil, la lengua puede sacarse y no es capaz de retraerla.

#### 3.2.1.6.2.3 *Respuesta al ruido*

Se evaluó mediante la respuesta del animal frente al estímulo sonoro producido por el golpe de una pinza mosquito sobre la mesa de acero donde se realizaba el estudio. Su escala de valoración fue la siguiente:

0. Sensible o normal.
1. Ligera
2. Muy débil.
3. No reacciona.

#### 3.2.1.6.2.4 *Analgesia digital*

Se determinó mediante la respuesta obtenida del animal frente al pinzamiento interdigital con una pinza mosquito en un miembro anterior. Su escala de valoración fue la siguiente:

0. Normal.
1. Responde a la presión ligera.
2. Responde a la presión moderada, con respuesta lenta.
3. Responde a la presión cuando se cierra la pinza en el primer diente.
4. No responde.

#### 3.2.1.6.2.5 *Analgesia auricular*

Se valoró de la misma manera y con la misma escala que la *analgesia digital*, sólo que ésta vez el estímulo era ejecutado sobre una de las orejas del animal.

### 3.2.1.6.2.6 Anestesia quirúrgica

Se determinó con base en la respuesta al animal sobre el pinzamiento de la raíz ventral de la cola, y su escala de valoración fue la siguiente:

0. Responde al pinzamiento de la raíz de la cola
1. No responde al pinzamiento de la raíz de la cola.

### 3.2.1.6.2.7 Grado de sedación total

Para calcular el grado de sedación total se realizó la sumatoria de los parámetros anteriores, estableciendo una escala proporcionada para determinar su nivel de profundidad. En la tabla 3 se resume la escala de valoración para el grado de sedación total.

**Tabla 3. Escala de valoración de la sedación total**

| <u>GRADO DE SEDACION<br/>TOTAL</u> | <u>PUNTUACIÓN</u> |
|------------------------------------|-------------------|
| NULA                               | 0                 |
| SUAVE                              | 1-8               |
| MODERADA                           | 9-14              |
| PROFUNDA                           | 15-19             |
| ANESTESIA QUIRÚRGICA               | 20                |

### 3.2.1.6.3 Evaluación de los efectos cardiorrespiratorios

#### 3.2.1.6.3.1 Frecuencia cardíaca

Se medirá en latidos por minuto, y se valorará mediante auscultación cardíaca con estetoscopio. Así mismo, se registrará la aparición de arritmias, soplos o cualquier otra eventualidad de tipo cardíaco.

#### *3.2.1.6.3.2 Frecuencia respiratoria*

Se medirá en respiraciones por minuto, y se valorará mediante auscultación de los campos pulmonares con estetoscopio, y por observación de los movimientos de los flancos y ollares.

#### **3.2.1.6.4 Valoración de la recuperación**

Para valorar la calidad de la recuperación se tuvieron en cuenta los siguientes aspectos:

##### *3.2.1.6.4.1 Tiempo esternal*

Definido como el tiempo en que el animal de manera espontánea pasaba del decúbito lateral al decúbito esternal desde la administración de los fármacos.

##### *3.2.1.6.4.2 Tiempo en pie*

Se determinó como el tiempo en que el animal lograba de manera espontánea la cuadripedestación desde la administración de los fármacos, a pesar de que pudiesen observarse signos de sedación.

##### *3.2.1.6.4.3 Calidad de la recuperación:*

Se le otorgó una escala de valoración así:

0. Inaceptable
1. Vocalización, agitación severa
2. Agitación moderada con pedaleo o temblor
3. Recuperación gradual, agitación suave
4. Recuperación muy suave, con quietud y confortable

A parte de los anteriores ítems, también se registraron todos los posibles eventos que pudiesen aparecer, como cianosis, nistagmos, vocalizaciones, o cualquiera que fuese destacable.

### 3.2.2 Experiencia 2. Estudio clínico/anestésico

#### 3.2.2.1 DISTRIBUCIÓN DE LOS ANIMALES EN GRUPOS EXPERIMENTALES

Para esta experiencia se contó igualmente con una población de 5 animales (n=5). La distribución de los animales objeto del estudio se resume en la tabla 4. Igualmente entre cada una de las las experiencias, se dio un periodo de descanso de 15 días y los animales fueron manipulados por los mismos investigadores. De la misma manera se mantuvo a cada animal en ayuno de sólidos de 8 horas, sin restricción de líquidos.

**Tabla 4. Distribución de los animales en grupos experimentales en la experiencia clínico/anestésica**

| GRUPO            | FÁRMACOS EMPLEADOS   |
|------------------|--|
| DMAMa<br>1 (n=5) | Dexmedetomidina intramuscular<br>+<br>Alfaxalona intramuscular |
| DMAVa<br>2 (n=5) | Dexmedetomidina intramuscular<br>+<br>Alfaxalona intravenosa   |

#### 3.2.2.2 PREPARACIÓN

La metodología de la preparación en esta experiencia fue similar a la realizada en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica. De manera adicional en la experiencia clínico/anestésica, se identificó la arteria auricular central de la oreja con el fin de cateterizarla y poder monitorizar la presión arterial de forma directa (invasiva), así como para la extracción de sangre para

la monitorización de los gases arteriales; para ello, se utilizaron catéteres No. 22 G.

### 3.2.2.3 TOMA DE MUESTRAS PARA LA GASOMETRÍA

Previo a la manipulación de los animales para la observación de los parámetros basales, se tomó la muestra basal de sangre arterial para su estudio gasométrico. La sangre se tomó directamente de la arteria auricular central de la oreja a través de una jeringuilla heparinizada, e inmediatamente la muestra era procesada en el gasómetro. Una vez extraída la sangre de la arteria del animal, se realizaba un lavado del cateter con 1 mL. de solución salina heparinizada, para que la posterior toma de muestra no tuviese trazas de la anterior. Además de la muestra basal, se tomaron muestras de sangre arterial a los minutos 10, 30, 60 y 90 minutos posteriores a la aplicación de la Alfaxalona en los 2 grupos.

### 3.2.2.4 EJECUCIÓN DE LA SEDACIÓN/ANESTESIA

#### **3.2.2.4.1 Administración de los fármacos**

Previo a la administración de los fármacos, se registraron los parámetros basales y se dieron los mismos tiempos de espera para la manipulación de los animales que en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica, siguiendo la misma metodología. Posteriormente, al primer grupo (DMAMa) se le administró Dexmedetomidina por vía intramuscular profunda en el bíceps femoral, e inmediatamente los animales eran introducidos en un cuarto silencioso y en penumbra para optimizar el efecto de la Dexmedetomidina; a los 5, 10 y 15 minutos postinyección se valoró únicamente la postura espontánea. Los demás parámetros como la respuesta al ruido, el tono muscular y la analgesia se dejaron a un lado, con el fin de evitar la excesiva manipulación y discomfort para el animal, ya que esto podría disminuir potencialmente la efectividad de la sedación otorgada por la Dexmedetomidina. Pasados estos 15 minutos, se registraron los demás parámetros relacionados con el grado de sedación (postura, tono muscular, analgesia, respuesta al

ruido), así como también la temperatura, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria y presión arterial. Inmediatamente después se administró la Alfaxalona por vía intramuscular profunda en el bíceps femoral del miembro contralateral usado para la aplicación de la Dexmedetomidina y a partir de allí se procedía a la instalación de la equipación para la monitorización. Los animales eran posicionados en una mesa de exploración de acero inoxidable con una manta entre el animal y la mesa como aislante térmico.

Al segundo grupo se le aplicó (DMAVa) Dexmedetomidina por vía intramuscular, e inmediatamente se le administró Alfaxalona por vía intravenosa lenta (durante 2 minutos). El volumen en mL. calculado de Alfaxalona fue llevado a 5 mL. totales con solución salina fisiológica, con el fin de repartir de una forma más homogénea el tiempo de administración intravenosa, que en este caso fue de 2 minutos. En la tabla 5 se resume la dosis y la metodología utilizada para la administración de los fármacos en la experiencia clínico/anestésica.

**Tabla 5. Dosis y metodología de la administración de los fármacos en la experiencia clínico/anestésica**

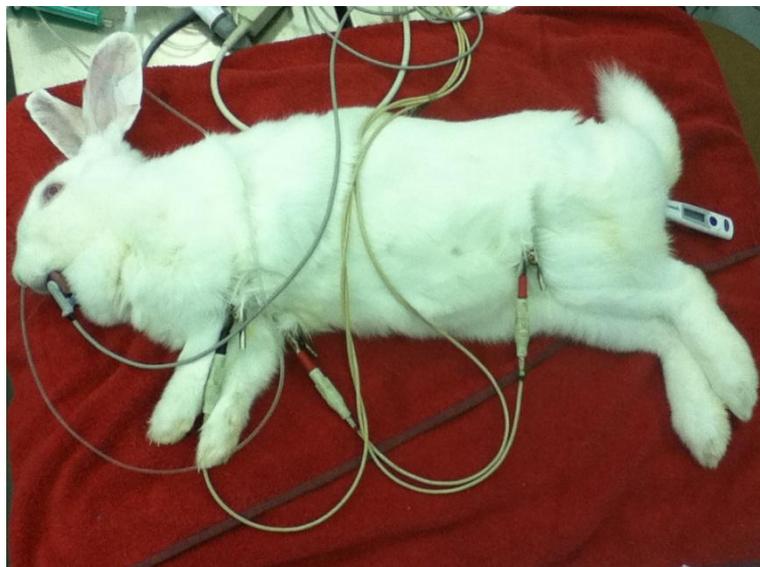
| GRUPO | FÁRMACOS Y DOSIS   | MODO DE APLICACIÓN DE LA DEXMEDETOMIDINA              | MODO DE APLICACIÓN DE LA ALFAXALONA   |
|-------|--|---|---|
| DMAMa | Dexmedetomidina<br>(0,1 mg/Kg)<br>+<br>Alfaxalona<br>(5 mg/Kg) | Inyección Intramuscular profunda en el bíceps femoral | Inyección intramuscular profunda en el bíceps femoral del miembro contralateral, 15 minutos después de la Dexmedetomidina     |
| DMAVa | Dexmedetomidina<br>(0,1 mg/Kg)<br>+<br>Alfaxalona<br>(5 mg/Kg) | Inyección Intramuscular profunda en el bíceps femoral | Inyección intravenosa lenta en la vena marginal de la oreja (durante 2 minutos), inmediatamente después de la Dexmedetomidina |

### 3.2.2.4.2 Valoración del grado de sedación/anestesia

Para la evaluación del grado de sedación/anestesia de esta experiencia, se utilizó la misma escala de valoración subjetiva desarrollada para la experiencia farmacológica; éstas incluyeron: La postura espontánea, el tono muscular, la respuesta al ruido, la analgesia digital, la analgesia auricular, y la anestesia quirúrgica. Ver: “*valoración del grado de sedación/anestesia en la experiencia farmacocinética y farmacodinámica*”.

### 3.2.2.4.3 Monitorización anestésica

La monitorización anestésica completa se realizó únicamente en la experiencia clínico/anestésica. De esta manera se evaluó la temperatura corporal, la frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, presión arterial (sistólica, diastólica y media), saturación de oxígeno, fracción espirada de CO<sub>2</sub> y análisis de gases arteriales (foto 1).



**Foto 1.** Monitorización anestésica en el conejo en la experiencia clínico/anestésica

#### *3.2.2.4.3.1 Frecuencia cardiaca*

La frecuencia cardiaca (latidos/minuto) basal y cuando fue necesario registrarla antes de la inclusión de los monitores, se determinó por auscultación cardiaca con estetoscopio. Pasado este periodo, la frecuencia cardiaca se registró mediante el electrocardiograma; de esta manera también se podían registrar las posibles arritmias o bloqueos que pudiesen presentarse.

#### *3.2.2.4.3.2 Frecuencia respiratoria*

Al igual que la frecuencia cardiaca, la frecuencia respiratoria (respiraciones/minuto) en los periodos basales y justamente anteriores a la inclusión de los monitores, se realizó por observación directa del flanco y ollares. Una vez pasado este periodo, se evaluó con la ayuda del capnógrafo, que esta vez, al no estar intubado el animal, recibía la señal a través de una sonda que salía directamente de una de las fosas nasales del animal.

#### *3.2.2.4.3.3 Presión arterial*

La presión arterial sistólica, diastólica y media, se determinó de forma directa e invasiva, a través de la implantación de un catéter 21 G en la arteria auricular media de la oreja. El catéter era conectado a un transductor que emitía la señal directamente al monitor. Los valores obtenidos fueron expresados en milímetros de mercurio (mmHg.)

#### *3.2.2.4.3.4 Pulsioximetría*

Cuando fue posible, y el grado de sedación del animal lo permitió, el porcentaje de saturación de oxígeno de la hemoglobina (SpO<sub>2</sub>) se registró a través del pulsioxímetro ubicado sobre la lengua de cada individuo.

#### 3.2.2.4.3.5 Capnometría/Capnografía

La fracción espirada final de CO<sub>2</sub>, así como la curva de capnografía, fueron registradas a través del capnógrafo, el cual recibía la señal, como ya se mencionó, de la sonda que salía directamente de la fosa nasal del individuo. Estos valores se expresaron en mmHg.

#### 3.2.2.4.3.6 Temperatura corporal

La determinación de la temperatura corporal se realizó por vía rectal, mediante la introducción de un termómetro digital durante todo el tiempo de duración de la experiencia, y se expresó en grados centígrados (°C).

#### 3.2.2.4.3.7 Gases arteriales

Durante esta experiencia se realizó el análisis de los gases arteriales a través de un gasómetro. Los parámetros monitorizados y los resultados obtenidos fueron: el pH (expresado en valor numérico), la presión parcial arterial de dióxido de carbono (PaCO<sub>2</sub>) (expresada en mmHg), la presión parcial arterial de oxígeno (PaO<sub>2</sub>) (expresada en mmHg), el bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) (expresado en mmol/L) y el exceso de bases arteriales (ABE) (expresado en mmol/L).

#### 3.2.2.4.4 Valoración de la recuperación

En esta experiencia se tuvo en cuenta únicamente la calidad de la recuperación y no los tiempos de recuperación (*Ver: valoración de la recuperación en la experiencia farmacocinética y farmacodinámica*). La explicación para hacerlo de esta manera radica en que en este caso se revertieron los efectos sedantes de la Dexmedetomidina con Atipamezol (Antisedan®) a dosis de 1 mg/kg, con el fin de promover una recuperación más rápida. Este antagonista fue administrado por vía intramuscular, justo a los 90 minutos de la administración de la Alfaxalona. La dosis empleada

fue la misma en términos de volumen que la Dexmedetomidina. Igualmente se registró cualquier evento relacionado con la anestesia y la recuperación.

### 3.2.2.5 MÉTODOS ESTADÍSTICOS EN EL ESTUDIO FARMACOCINÉTICO/FARMACODINÁMICO

Para el desarrollo de este trabajo se han llevado a cabo una serie de estudios estadísticos con el fin de obtener los estadígrafos más importantes y de evaluar la homogeneidad de los datos utilizados.

En la experiencia farmacocinética/farmacodinámica, para verificar la homogeneidad de las distintas concentraciones obtenidas para cada tiempo de extracción, se ha utilizado el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV mediante el cual se comprobó el ajuste de dichas concentraciones a la distribución normal. También se utilizó esta prueba para verificar la existencia o no de diferencias entre los valores de los distintos parámetros farmacocinéticos obtenidos para un mismo modelo de ajuste, considerando ambas vías de administración de alfaxalona.

Las posibles diferencias existentes entre las distintas curvas farmacocinéticas experimentales, correspondientes a una misma vía de administración se determinaron con el test de correlación de Pearson. Para detectar la existencia o no de diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros farmacocinéticos obtenidos entre las distintas vías de administración se han utilizado métodos paramétricos, test t-student, y métodos no paramétricos, test de Wilcoxon.

#### **3.2.2.5.1 TÉRMINOS Y SÍMBOLOS**

Los términos y símbolos utilizados en el presente trabajo para la descripción del comportamiento farmacocinético de la alfaxalona, son los recogidos en la normativa establecida al respecto por el *COMMITTEE FOR PHARMACOKINETIC NOMENCLATURE OF CLINICAL PHARMACOLOGY* (Aronson et al., 1988)

### 3.2.2.6 MÉTODOS ESTADÍSTICOS EN EL ESTUDIO CLÍNICO/ANESTÉSICO

Para la edición y análisis de los datos obtenidos se utilizó el paquete estadístico IBM SPSS Statistic 21. En la experiencia FC/FD, se realizó un ANOVA de una vía para el análisis de los parámetros de tipo cuantitativo tales como Tiempo esternal, Tiempo en pie, Frecuencia Cardíaca y Frecuencia Respiratoria. Cuando el ANOVA reveló diferencias significativas entre grupos, se realizó un test post-hoc de Tukey. Estos mismos parámetros se analizaron en la experiencia clínico/anestésica junto con las Presiones arteriales, la Pulsioximetría, la Capnografía y los Gases Arteriales, por medio de una T de Student que se consideró significativo para  $p \leq 0,05$ .

El análisis de los parámetros cualitativos de la experiencia FC/FD se realizó por medio de un Kruskal-Wallis con un nivel de significación del 95%. Este test estadístico analizó los siguientes parámetros: Postura espontánea, Tono muscular, Respuesta al ruido, Analgesia digital, Analgesia auricular, Anestesia quirúrgica, Grado de sedación total, utilizando como variable de agrupación el fármaco o combinaciones de fármacos y su dosis. Cuando este test no paramétrico resultó estadísticamente significativo ( $p \leq 0,05$ ) se realizaron comparaciones dos a dos por medio de la U de Mann-Whitney para dos muestras independientes con un nivel de significación estadística del 95%, utilizando como variables de agrupación el fármaco o combinaciones de fármacos y su dosis. En la experiencia clínico/anestésica estos parámetros cualitativos fueron analizados directamente por medio de una U de Mann-Whitney. La U de Mann-Whitney se consideró significativa para  $p \leq 0,05$ . Todos los datos de ambas experiencias se expresan como media  $\pm$  desviación típica ( $X \pm SD$



## **4 RESULTADOS**





## 4.1 EXPERIENCIA 1. ESTUDIO FARMACOCINÉTICO Y FARMACODINÁMICO

### 4.1.1 Administración Intravenosa de Alfaxalona

Los valores de concentración plasmática de alfaxalona obtenidos tras la administración intravenosa de Alfaxan<sup>®</sup> (alfaxalona solubilizada con 2-hidroxi-propil- $\beta$ -ciclodextrina) a conejos, a una dosis equivalente a 5 mg/kg de peso vivo, se muestran en la Tabla 1 del Anexo. En todos los casos se observa cómo en los animales se produce un marcado descenso de las concentraciones durante los primeros 30 minutos tras su administración, en tanto que ese descenso se hace más lento a partir de ese momento.

La evolución de los valores medios de concentración plasmática de alfaxalona a los distintos tiempos de extracción se muestra en el Gráfico 1 del Anexo. En la Tabla 2 del Anexo se muestran dichos valores junto con diversos estadísticos. Con respecto al coeficiente de variación, Wagner (1983) indica que en los ensayos farmacocinéticos, cuando los valores de concentración plasmática se distribuyen normalmente, los coeficientes de variación que se obtienen oscilan entre el 25% y 75%, estableciendo que el número de animales idóneo a utilizar en estos estudios debe estar comprendido entre 5 y 20. En este estudio se han obtenido valores incluso inferiores al 35 % en todas las extracciones, salvo en las correspondiente a las 1,5 y 2 horas, en las que se supera. A pesar de ello, el valor más alto (51,13%), es muy inferior al 75% que Wagner (1983) considera como normal, por lo que *a priori* los datos obtenidos resultan válidos.

Sin embargo, con el fin de confirmar dicha suposición, se ha realizado el test de Kolmogorov-Smirnov entre todos los valores de concentración plasmática de alfaxalona obtenidos en los diferentes animales para un mismo tiempo de extracción. Los resultados de este estudio se muestran en la última columna de la Tabla 2 del Anexo, donde puede apreciarse que el nivel de significación es elevado para todos los tiempos de extracción, excepto para la extracción realizada a las 2 horas.

Por tanto, queda comprobado un buen ajuste de las concentraciones a la distribución normal. De esta forma, la homogeneidad de los datos obtenidos no sólo es suficiente, sino que está plenamente probada, por lo que no es preciso incrementar el número de animales.

Además, se realizó un test de correlación bivalente de Pearson comparando entre sí las cinéticas de los diferentes animales, utilizando el programa SPSS (versión 19.0). Los resultados del mismo deben alertar sobre las diferencias existentes entre los animales; sin embargo, en la Tabla 3 del Anexo se aprecian los elevados niveles de significación obtenidos en todos los casos, con lo que se puede afirmar que todos los conejos presentan un comportamiento cinético similar.

En la Tabla 4 del Anexo, se muestran los resultados del estudio farmacocinético no compartimental, obtenidos mediante el programa WinNonlin Professional® (versión 5.0), tras ajustar los datos de concentración plasmática-tiempo al modelo 201, correspondiente a una administración intravenosa en bolo. En dicha tabla, aparecen los valores de el área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (AUC), área bajo la curva del primer momento estadístico (AUMC) y tiempo medio de residencia (MRT), que corresponden a los distintos momentos estadísticos de la curva de disposición, así como los valores de la constante híbrida de disposición lenta ( $\lambda_z$ ), el tiempo de vida media o semivida ( $t_{1/2\lambda_z}$ ), la concentración plasmática inicial teórica ( $C_0$ ), el aclaramiento plasmático (Cl), el volumen aparente de distribución en estado estacionario ( $V_{ss}$ ) y el volumen aparente de distribución en función del área bajo la curva ( $V_z$ ). Las medias de dichos valores, así como los estadísticos más relevantes y los resultados de la aplicación del test de Kolmogorov-Smirnov (última columna), aparecen en la Tabla 5 del Anexo. Como se puede observar, todos los parámetros muestran unos coeficientes de variación y unos niveles de significación dentro de los niveles considerados adecuados por Wagner (1983).

#### **4.1.2 Administración Intramuscular de Alfaxalona**

La Tabla 6 del Anexo, muestra los valores de concentración plasmática de alfaxalona obtenidos tras la administración intramuscular de una dosis de 5 mg/kg de peso vivo en conejos. Como se puede apreciar las concentraciones plasmáticas experimentales son inferiores a las concentraciones obtenidas tras la administración intravenosa en todos los tiempos ensayados. En los 5 animales, la concentración del fármaco sigue una evolución semejante a lo largo del tiempo: aumenta hasta aproximadamente las 0,25 horas, y desciende posteriormente de una manera gradual y sostenida, detectándose concentraciones plasmáticas hasta las 8 horas.

La representación gráfica semilogarítmica de los valores medios de las concentraciones plasmáticas (media  $\pm$  SD), obtenidos tras la administración intramuscular a los distintos tiempos de extracción, aparece en el Gráfico 1 del Anexo, junto a los obtenidos tras la administración intravenosa. En el Gráfico 4 del Anexo, aparecen representados los valores de la administración intramuscular de alfaxalona y los obtenidos tras la administración de alfaxalona en combinación con dexmedetomidina por esa misma vía.

Los valores medios de las concentraciones plasmáticas de alfaxalona, junto con los estadísticos de desviación y los resultados de la aplicación del test de Kolmogorov-Smirnov se muestran en la Tabla 7 del Anexo. Los coeficientes de variación obtenidos son inferiores al 40 %, excepto el correspondiente al tiempo de extracción de 4 horas (67,9 %).

Para confirmar la homogeneidad de estos resultados y su ajuste a la distribución normal, se realizó un test de Kolmogorov-Smirnov, entre todos los valores de concentración plasmática de alfaxalona obtenidos en los diferentes animales, para un mismo tiempo de extracción. Los resultados de este test, se muestran en la última columna de la Tabla 7 del Anexo. Como puede apreciarse los niveles de significación son muy elevados en todos los

tiempos, a excepción de las 0,067, 0,25 y 1,5 horas, que resultan algo más bajos.

La Tabla 8 del Anexo pone de manifiesto los resultados obtenidos tras la realización de un test de Pearson, que evidencia las posibles diferencias existentes entre los animales en el perfil farmacocinético. Como puede apreciarse los niveles de significación obtenidos son elevados en todos los casos, lo que hace esperar un comportamiento cinético similar en los 5 animales.

El resultado del estudio farmacocinético no compartimental queda reflejado en la Tabla 9 del Anexo. El estudio estadístico de los parámetros no compartimentales se muestra en la Tabla 10 del Anexo, presentándose en la última columna el correspondiente test de Kolmogorov-Smirnov, en el cual se demuestra el ajuste a la distribución normal, ya que en todos los parámetros se obtienen niveles de significación elevados. Sin embargo hay que señalar que, aunque los datos sean homogéneos, los coeficientes de variación indican una variabilidad de los parámetros farmacocinéticos tras esta vía de administración, superior que la obtenida tras la administración de alfaxalona por vía intravenosa (Tabla 5 del Anexo).

#### **4.1.3 Administración Intravenosa de Alfaxalona en combinación con la Administración Intramuscular de Dexmedetomidina**

Los valores de concentración plasmática de alfaxalona obtenidos tras la administración intravenosa de Alfaxan<sup>®</sup> a una dosis de 5 mg/kg, en combinación con dexmedetomidina administrada por vía intramuscular a una dosis de 0,1 mg/kg, se muestran en la Tabla 11 del Anexo. En todos los casos, se observa cómo en los animales se produce un marcado descenso de las concentraciones durante los primeros 30 minutos tras su administración, en tanto que ese descenso se hace más lento a partir de ese momento.

La evolución de los valores medios de concentración plasmática de alfaxalona a los distintos tiempos de extracción, tras la administración intravenosa, junto a los obtenidos tras la administración intramuscular en dicha combinación se muestra en el Gráfico 2 del Anexo. En el Gráfico 3 del Anexo, se muestran las concentraciones plasmáticas de alfaxalona obtenidas tras la administración intravenosa tanto de forma individual como en combinación con dexmedetomidina, observándose una gran similitud en ambos perfiles cinéticos, aunque los niveles son ligeramente más elevados en el caso de la combinación. En la Tabla 12 del Anexo se muestran los valores medios de concentración plasmática correspondientes a cada tiempo de extracción junto con diversos estadísticos. Con respecto a los coeficiente de variación, y lo indicado por Wagner (1983), se han obtenido valores inferiores al 35 % en todas las extracciones, salvo en la correspondiente a las 2 horas. A pesar de ello, el valor más alto (46,53 %), es muy inferior al 75% considerado como normal por este autor, por lo que los datos obtenidos resultan válidos.

Sin embargo, para confirmar la homogeneidad de los datos, se ha realizado el test de Kolmogorov-Smirnov entre todos los valores de concentración plasmática de alfaxalona obtenidos en los diferentes animales para un mismo tiempo de extracción. Los resultados de este estudio se muestran en la última columna de la Tabla 12 del Anexo, donde puede apreciarse que el nivel de significación es elevado para todos los tiempos de extracción, algo menor en el tiempo de extracción correspondiente a 1 hora. Por tanto, queda comprobado un buen ajuste de las concentraciones a la distribución normal, por lo que no es preciso incrementar el número de animales.

Además, se realizó el estudio de correlación bivalente de Pearson, comparando entre sí las cinéticas de los diferentes animales, y constatar las posibles diferencias de comportamiento cinético entre los distintos animales. Los resultados se muestran en la Tabla 13 del Anexo, donde se aprecian los elevados niveles de significación obtenidos en todos los casos. En el caso del conejo 2 se obtienen valores inferiores de correlación al compararlo con

el resto de animales del grupo, aunque sin ser estadísticamente significativos, con lo que se puede afirmar que todos los conejos presentan un comportamiento cinético similar.

En la Tabla 14 del Anexo, se muestran los resultados del estudio farmacocinético no compartimental, obtenidos mediante el programa WinNonlin Professional® (versión 5.0), tras ajustar los datos de concentración plasmática al modelo 201 correspondiente a una administración intravenosa en bolo. En dicha tabla aparecen los valores del área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (AUC), área bajo la curva del primer momento estadístico (AUMC) y tiempo medio de residencia (MRT), correspondientes a los distintos momentos estadísticos de la curva de disposición, así como los valores de la constante híbrida de disposición lenta ( $\lambda_z$ ), el tiempo de vida media o semivida ( $t_{1/2\lambda_z}$ ), la concentración plasmática inicial teórica ( $C_0$ ), el aclaramiento plasmático (Cl), el volumen aparente de distribución en estado estacionario ( $V_{ss}$ ) y el volumen aparente de distribución en función del área bajo la curva ( $V_z$ ). Las medias de dichos valores, así como los estadísticos más relevantes y los resultados de la aplicación del test de Kolmogorov-Smirnov (última columna), aparecen en la Tabla 15 del Anexo. Como se puede observar, todos los parámetros muestran unos coeficientes de variación y unos niveles de significación dentro de los niveles considerados adecuados por Wagner (1983).

#### **4.1.4 Administración Intramuscular de Alfaxalona en combinación con la Administración intramuscular de Dexmedetomidina**

La Tabla 16 del Anexo muestra los valores de concentración plasmática de alfaxalona obtenidos tras la administración intramuscular de una dosis de 5 mg/kg en conejos, en combinación con la administración intramuscular de dexmedetomidina a una dosis de 0,1 mg/kg. Como se puede apreciar las concentraciones plasmáticas experimentales son inferiores a las concentraciones obtenidas tras la administración intravenosa, en todos los tiempos ensayados. En los 5 animales, la

concentración del fármaco sigue una evolución semejante a lo largo del tiempo: aumenta hasta los primeros 15 minutos, y desciende posteriormente de manera gradual y sostenida, detectándose concentraciones plasmáticas hasta las 8 horas.

La representación gráfica semilogarítmica de los valores medios de las concentraciones plasmáticas (media  $\pm$  SD), a los distintos tiempos de extracción, aparece en el Gráfico 2 del Anexo, junto a las concentraciones obtenidas tras la administración intravenosa de la combinación. En el Gráfico 4 del Anexo se muestran las concentraciones plasmáticas de alfaxalona obtenidas tras la administración intramuscular tanto de forma individual como en combinación con dexmedetomidina, observándose una gran similitud en ambos perfiles cinéticos, aunque los niveles son ligeramente más elevados en el caso de la combinación a partir de las 2 horas.

Los valores medios de las concentraciones plasmáticas de alfaxalona junto con los estadísticos de desviación y los resultados de la aplicación del test de Kolmogorov-Smirnov se muestran en la Tabla 17 del Anexo. Los coeficientes de variación obtenidos son inferiores al 30 %, excepto el correspondiente a los tiempos de extracción de 0,03, 0,07, 0,1 y 6 horas, esta mayor variabilidad de los datos puede ser debida a la interacción con dexmedetomidina en el metabolismo o en la eliminación del fármaco.

Para confirmar la homogeneidad de estos resultados y su ajuste a la distribución normal, se realizó un test de KOLMOGOROV-SMIRNOV, entre todos los valores de concentración plasmática de alfaxalona obtenidos en los diferentes animales, para un mismo tiempo de extracción. Los resultados de este test, se muestran en la última columna de la Tabla 17 del Anexo. Como puede apreciarse los niveles de significación son elevados en todos los tiempos, a excepción de las 0,067, y 4 horas, que resultan algo más bajos.

La Tabla 18 del Anexo muestra los resultados obtenidos tras la realización del test de Pearson. Como puede apreciarse los niveles de significación permiten distinguir dos subgrupos de individuos con un comportamiento cinético diferenciado, por un lado los conejos 1, 3 y 5, y por otro los conejos 2 y 4, aunque es este último individuo el que más se diferencia del resto del grupo. Estas diferencias pueden ser debidas a interferencias en el proceso de absorción, metabolismo y/o excreción de la alfaxalona cuando es administrada en combinación con dexmedetomidina.

El resultado del estudio farmacocinético no compartimental queda reflejado en la Tabla 19 del Anexo. El estudio estadístico de los parámetros no compartimentales se muestra en la Tabla 20 del Anexo, presentándose en la última columna el correspondiente test de Kolmogorov-Smirnov, en el cual se demuestra el ajuste a la distribución normal, ya que en la mayoría de los parámetros se obtienen niveles de significación elevados.

#### **4.1.5 Comparación de los parámetros farmacocinéticos de Alfaxalona obtenidos tras su administración intravenosa e intramuscular, administrada de forma única o en combinación con Dexmedetomidina.**

Para verificar la existencia de diferencias significativas entre la administración intravenosa e intramuscular de alfaxalona de forma única o en combinación con dexmedetomidina, se han aplicado pruebas estadísticas paramétricas (t de Student) y no paramétricas (test de Wilcoxon) a los parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el análisis no compartimental. Los resultados de este estudio se muestran en la Tabla 21 del Anexo.

En dicha tabla, se puede observar que tras la administración intravenosa e intramuscular de alfaxalona existen diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) solamente en el área bajo la curva (AUC), AUMC y en el aclaramiento plasmático. Lo anterior sugiere que tras la administración

intramuscular de alfaxalona, la eliminación se hace más lenta provocando mayor exposición neta del organismo al fármaco (AUC), con un aumento de la vida media que sin embargo no resulta estadísticamente significativo ( $P > 0,05$ ).

La representación gráfica de las concentraciones plasmáticas e intramusculares de alfaxalona aparece el Gráfico 1 del Anexo, y muestran que los valores medios correspondientes a la administración intramuscular superan los de la intravenosa desde los 30 minutos hasta las cuatro horas de la administración.

Si se comparan la administración intravenosa e intramuscular de alfaxalona en combinación con dexmedetomidina, las diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) aparecen en el área del primer momento estadístico (AUMC) y en el tiempo medio de residencia (MRT). La administración intramuscular de la combinación prolonga significativamente la permanencia y exposición del organismo a la alfaxalona como puede observarse en el Gráfico 2 del Anexo, donde las concentraciones tras la administración intramuscular superan las intravenosas a partir de los 45 minutos hasta el final del periodo de muestreo.

Al comparar la administración intravenosa de alfaxalona de forma única y en combinación con dexmedetomidina se detectan diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) en la constante híbrida de disposición lenta ( $\lambda_z$ ), tiempo de vida media de dicha fase ( $t_{1/2\lambda_z}$ ) y en MRT, indicando que la combinación con dexmedetomidina prolonga significativamente la permanencia de alfaxalona en el conejo, probablemente debido a interferencias en el metabolismo, o bien a la eliminación de ambos fármacos. En el Gráfico 3 del Anexo aparece la representación semilogarítmica de la evolución de las concentraciones plasmáticas medias en ambos casos, y se puede observar que ambas curvas son superponibles pero que los niveles de alfaxalona cuando se administra en combinación con dexmedetomidina, son más elevados a partir de los 30 minutos hasta el final del periodo de muestreo.

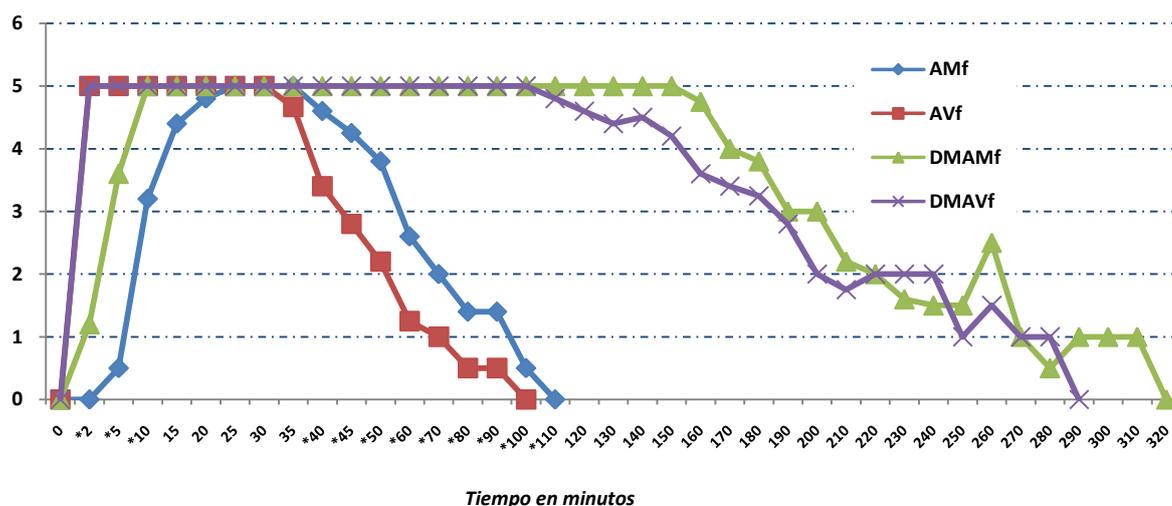
En el caso de la administración intramuscular de alfaxalona de forma aislada y en asociación con dexmedetomidina, sólo existen diferencias significativas en MRT y en el tiempo medio de absorción (MAT) siendo más prolongados en el segundo caso, indicando que la combinación provoca una prolongación en el tiempo, tanto en el proceso de absorción como en el de permanencia del fármaco en el organismo, sin existir diferencias significativas en cuanto a la exposición al fármaco (AUC) o a la concentración plasmática máxima alcanzada. En el Gráfico 4 del Anexo aparece la representación de las concentraciones medias experimentales en ambos casos. Aunque no existen diferencias significativas en la concentración plasmática máxima, debido a la mayor variabilidad de los datos tras la administración de alfaxalona en combinación, los valores medios discurren por debajo de los obtenidos tras la administración única de alfaxalona hasta las 2 horas; posteriormente y hasta el final del estudio, los valores de concentración son más elevados en el caso de la combinación.

#### **4.1.6 Evaluación del grado de sedación/anestesia**

##### **4.1.6.1 POSTURA ESPONTÁNEA**

Se observaron diferencias estadísticamente significativas al inicio de la experiencia, cuando se administraba la alfaxalona sola por vía intramuscular, comparada con la administración por vía intravenosa, probablemente debido a la rapidez de absorción del fármaco por ésta última vía. El mismo comportamiento se observa con los grupos donde se combina la alfaxalona con dexmedetomidina (DMAMf y DMAVf). Las diferencias más notorias se observan cuando se comparan los grupos a los que se les administró alfaxalona sola (intravenosa o intramuscular) con los grupos a los que se les agregó dexmedetomidina. La gráfica 1 muestra por un lado, tiempos similares de regreso a la postura basal entre los grupos donde se administró la alfaxalona sola, y por otro, similitudes entre los grupos donde se administró alfaxalona conjuntamente con

dexmedetomidina. Así mismo, se muestran diferencias importantes entre los grupos alfaxalona sola con los grupos donde se combinó con dexmedetomidina. La tabla 22 del Anexo muestra las frecuencias de la postura espontánea en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica. La tabla 23 del Anexo, muestra las diferencias estadísticamente significativas en este parámetro.

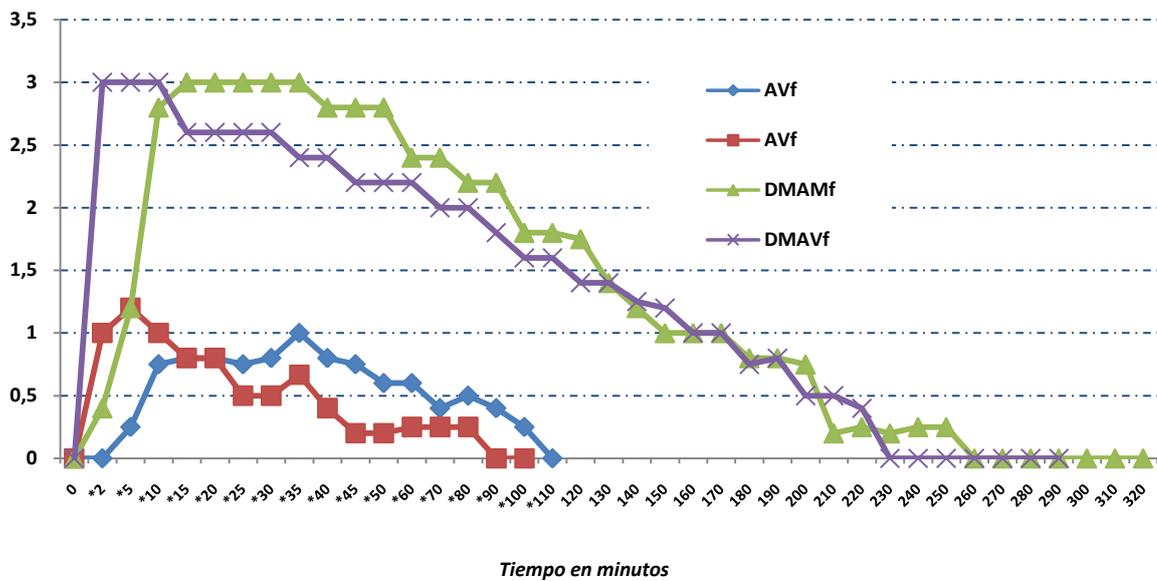


**Gráfica 1. Postura espontánea en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica.** Los tiempos que aparecen con un asterisco (\*), son aquellos donde se observan diferencias estadísticamente significativas entre grupos. Eje Y: (0) Postura normal; (1) Signos suaves de sedación pero en pie; (2) Acostado en decúbito externo con cabeza arriba; (3) Acostado en decúbito externo con cabeza abajo; (4) Decúbito lateral espontáneo o forzado pero puede intentar incorporarse; (5) Decúbito lateral espontáneo o forzado pero es incapaz de levantarse.

#### 4.1.6.2 TONO MUSCULAR

En cuanto a la valoración del tono muscular en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica, se observa que no existieron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) al comparar los grupos AMf y AVf. Entre los grupos DMAMf y DMAVf únicamente existieron al inicio de la experiencia (minutos 2 y 5), probablemente debido a la rapidez de absorción de la alfaxalona venosa. Tras comparar los grupos alfaxalona sola con los grupos alfaxalona combinada con dexmedetomidina, sí que se observan diferencias estadísticamente significativas a lo largo de toda la experiencia. La gráfica 2 demuestra que las tendencias son similares, bien

se administren los fármacos por vía venosa o muscular, tanto en los grupos donde se administró alfaxalona sola, como en los grupos donde se suministró alfaxalona combinada con dexmedetomidina. La tabla 24 del Anexo muestra las frecuencias del tono muscular en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica. La tabla 25 del Anexo, muestra las diferencias estadísticamente significativas en este parámetro.

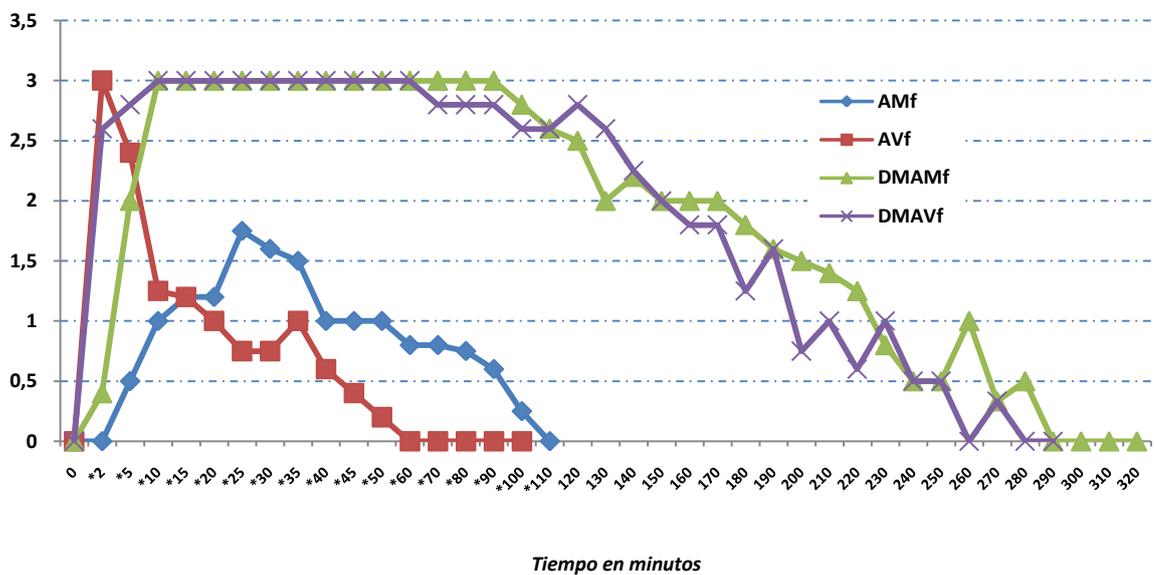


**Gráfica 2. Tono muscular en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica.** Los tiempos que aparecen con un asterisco (\*), son aquellos donde se observan diferencias estadísticamente significativas entre grupos. Eje Y: (0) Normal; (1) Ligeramente débil, no puede abrirse la boca o se hace con dificultad; (2) Débil, se puede abrir la boca sin dificultad; (3) Muy débil, la lengua puede sacarse y no es capaz de retraerla.

#### 4.1.6.3 RESPUESTA AL RUIDO

La respuesta al ruido en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica presentó varias diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) comparando los grupos entre sí. Entre los grupos AMf y AVf existieron diferencias al inicio de la experiencia, probablemente como consecuencia de la velocidad del inicio de acción de la alfaxalona intravenosa; pasados 5 minutos ya no existieron diferencias significativas, reapareciendo nuevamente a partir del minuto 50, extendiéndose éstas hasta el final de la experiencia. Tras comparar los grupos alfaxalona sola y los grupos alfaxalona combinada con dexmedetomidina, se observaron diferencias significativas prácticamente a

lo largo de toda la experiencia, demostrando el sinergismo de los 2 fármacos. De otro lado, entre los grupos DMAMf y DMAVf, únicamente existieron diferencias significativas en el minuto 2, probablemente como consecuencia de la rapidez de acción de la alfaxalona intravenosa. El comportamiento de la respuesta al ruido en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica se refleja en la gráfica 3. La tabla 26 del Anexo muestra las frecuencias de la respuesta al ruido en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica. La tabla 27 del Anexo, muestra las diferencias estadísticamente significativas en este parámetro.

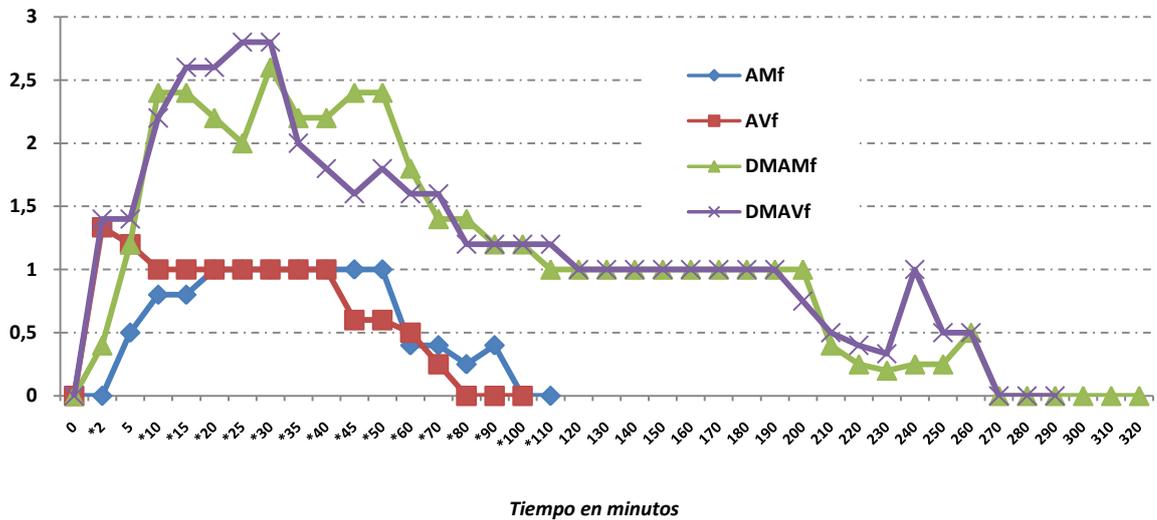


**Gráfica 3. Respuesta al ruido en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica.** Los tiempos que aparecen con un asterisco (\*), son aquellos donde se observan diferencias estadísticamente significativas entre grupos. Eje Y: (0) Sensible o normal; (1) Ligera; (2) Muy débil; (3) No reacciona

#### 4.1.6.4 ANALGESIA DIGITAL

Tras comparar los grupos objeto del estudio farmacocinético/farmacodinámico, se observan varias diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ). Por un lado, entre los grupos AMf y AVf, así como entre los grupos DMAMf y DMAVf, sólo se observan estas diferencias en el minuto 2, posiblemente debido a la rapidez del inicio de la acción de la alfaxalona por vía venosa. De otro lado, tras comparar ambos grupos alfaxalona sola con los grupos combinados con dexmedetomidina,

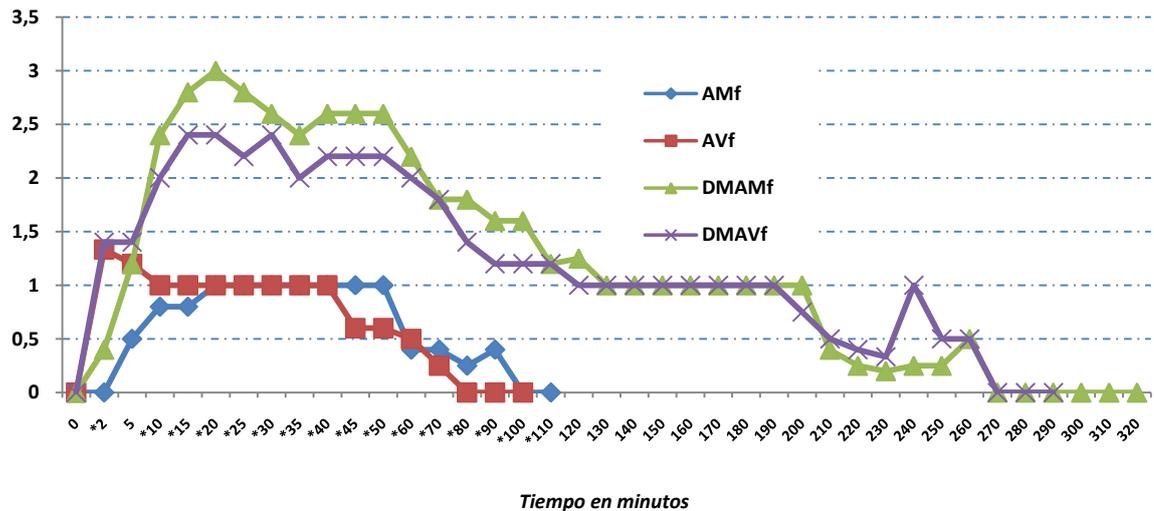
estas diferencias fueron estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) a todo lo largo de la experiencia. Dicho comportamiento se refleja en la gráfica 4. La tabla 28 del Anexo muestra las frecuencias de la analgesia digital en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica. La tabla 29 del Anexo, muestra las diferencias estadísticamente significativas en este parámetro.



**Gráfica 4. Analgesia digital en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica.** Los tiempos que aparecen con un asterisco (\*), son aquellos donde se observan diferencias estadísticamente significativas entre grupos. Eje Y: (0) Normal; (1) Responde a la presión ligera; (2) Responde a la presión moderada con respuesta lenta; (3) Responde a la presión cuando se cierra la pinza en el 1° diente; (4) No reacciona.

#### 4.1.6.5 ANALGESIA AURICULAR

La analgesia auricular en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica presentó un comportamiento similar a la analgesia digital; así, se notaron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) únicamente al inicio de la experiencia (minuto 2) entre grupos alfaxalona y entre grupos alfaxalona combinada con dexmedetomidina. Por otro lado, en la comparación de los grupos alfaxalona sola (intravenosa o intramuscular), con los grupos alfaxalona combinada, se observaron diferencias estadísticamente significativas a todo lo largo de la experiencia, tal como se refleja en la gráfica 5. La tabla 30 del Anexo muestra las frecuencias de la analgesia auricular en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica. La tabla 31 del Anexo, muestra las diferencias estadísticamente significativas en este parámetro.



**Gráfica 5. Analgesia auricular en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica.** Los tiempos que aparecen con un asterisco (\*), son aquellos donde se observan diferencias estadísticamente significativas entre grupos. Eje Y: (0) Normal; (1) Responde a la presión ligera; (2) Responde a la presión moderada con respuesta lenta; (3) Responde a la presión cuando se cierra la pinza en el 1° diente; (4) No reacciona.

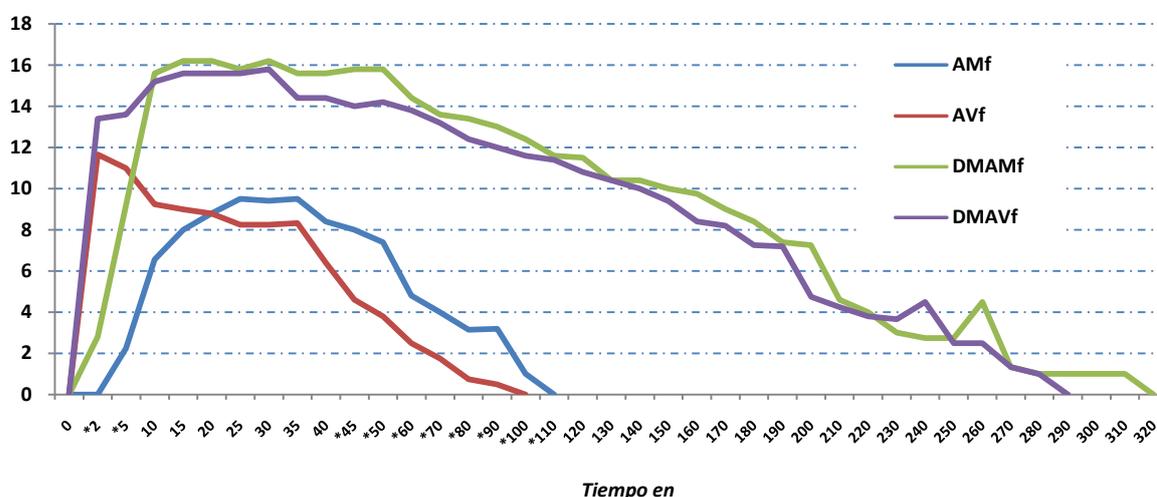
#### 4.1.6.6 ANESTESIA QUIRÚRGICA

Solamente 1 individuo del total de animales, perteneciente al grupo DMAVf (Dexmedetomidina intramuscular+Alfaxalona intravenosa) logró llegar a un estado de anestesia quirúrgica, entendiéndose como tal a una ausencia de respuesta al pinzamiento de la raíz de la cola. Este grado de analgesia se mantuvo desde el minuto 10 hasta el minuto 50, posterior a la administración de los fármacos.

#### 4.1.6.7 GRADO DE SEDACIÓN TOTAL

En la valoración del grado de sedación total se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre los grupos Alfaxalona sin Dexmedetomidina al inicio (minuto 2 y 5) y al final de la experiencia (momento en el que recuperaban la postura); Por otro lado, entre los grupos donde se combinó la Dexmedetomidina con la Alfaxalona, solo se observaron diferencias en el minuto 2 de la experiencia, justificada probablemente por la rapidez en el inicio de acción de la Alfaxalona por vía

intravenosa. Al comparar los grupos Alfaxalona sin Dexmedetomidina y Alfaxalona con Dexmedetomidina, se observan diferencias significativas fundamentalmente a partir del minuto 45 de la administración de la Alfaxalona. Solo un animal en toda la experiencia, perteneciente al grupo DMAVf logró la máxima puntuación (20/20) denominada como “*anestesia quirúrgica*”. La gráfica 6 muestra el comportamiento de la sedación total en los grupos objeto del estudio. La tabla 32 del Anexo muestra las diferencias estadísticamente significativas de la sedación total en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica.



**Gráfica 6. Grado de sedación total en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica.** Eje Y: (0) Sedación nula; (1-9) Sedación suave; (8-14) Sedación moderada; (15-19) Sedación profunda; (20) Anestesia quirúrgica. Los tiempos que aparecen con un asterisco (\*), son aquellos donde se observan diferencias estadísticamente significativas entre grupos.

#### 4.1.7 Evaluación de los parámetros cardiorrespiratorios

##### 4.1.7.1 FRECUENCIA CARDIACA

La frecuencia cardíaca en la experiencia farmacocinética y farmacodinámica reflejó diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) así:

- Entre los grupos AMf y AVf al minuto: 80 (p 0,024).
- Entre los grupos AMf y DMAMf a los minutos: 10 (p 0,003), 15 (p 0,001), 20 (p 0,001), 25 (p 0,001), 30 (p 0,001), 40 (p 0,001), 50 (p 0,001), 60 (p 0,001), 70 (p 0,001), 80 (p 0,001), 90 (p 0,001) y 100 (p 0,001).
- Entre los grupos AMf y DMAVf a los minutos: 10 (p 0,05), 15 (p 0,001), 20 (p 0,001), 25 (p 0,001), 30 (p 0,001), 40 (p 0,001), 50 (p 0,001), 60 (p 0,001), 70 (p 0,001), 80 (p 0,001), 90 (p 0,001), y 100 (p 0,001).
- Entre los grupos AVf y DMAMf a los minutos: 10 (p 0,032), 15 (p 0,004), 20 (p 0,001), 25 (p 0,001), 30 (p 0,001), 40 (p 0,001), 50 (p 0,001), 60 (p 0,001), 70 (p 0,001), 80 (p 0,001), 90 (p 0,001), y 100 (p 0,001).
- Entre los grupos AVf y DMAVf a los minutos: 15 (p 0,013), 20 (p 0,001), 25 (p 0,001), 30 (p 0,001), 40 (p 0,001), 50 (p 0,001), 60 (p 0,001), 70 (p 0,001), 80 (p 0,001), 90 (p 0,001) y 100 (p 0,001).

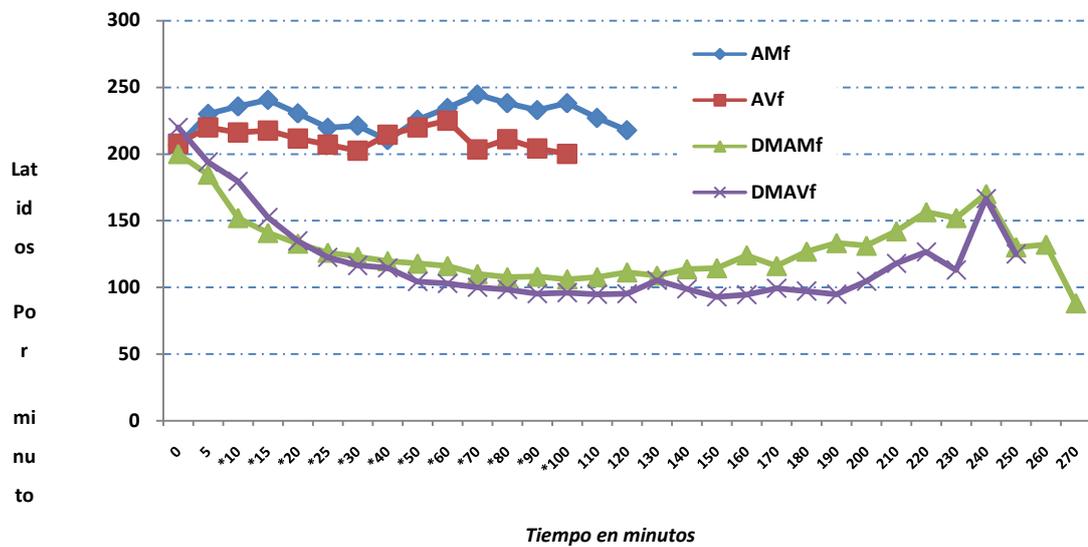
Como se observa, entre los grupos a los que se les administró conjuntamente Dexmedetomidina y Alfaxalona independientemente de la vía de administración de la Alfaxalona no mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ).

Por otro lado, entre los grupos a los que se les administró únicamente Alfaxalona bien por vía intravenosa o intramuscular, únicamente hubo diferencias estadísticamente significativas (p 0,024) en el minuto 80 de la experiencia.

Así mismo, hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos a los que se les administró Alfaxalona sola (intravenosa e intramuscular) y los grupos a los que se les administró Alfaxalona junto a Dexmedetomidina, prácticamente a lo largo de toda la experiencia.

La frecuencia cardiaca se dejó de registrar cuando el animal ya no reflejaba signos de sedación y sus valores se consideraron como cero (0) o normales, dado que el hecho de sujetarlo para registrar los datos, supondría un estrés para el animal, alterando significativamente su frecuencia cardiaca

y respiratoria. La gráfica 7 refleja el comportamiento de la frecuencia cardiaca durante la experiencia farmacocinética y farmacodinámica.



**Gráfica 7. Frecuencia cardiaca en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica.** Los tiempos que aparecen con un asterisco (\*), son aquellos donde se observan diferencias estadísticamente significativas entre grupos.

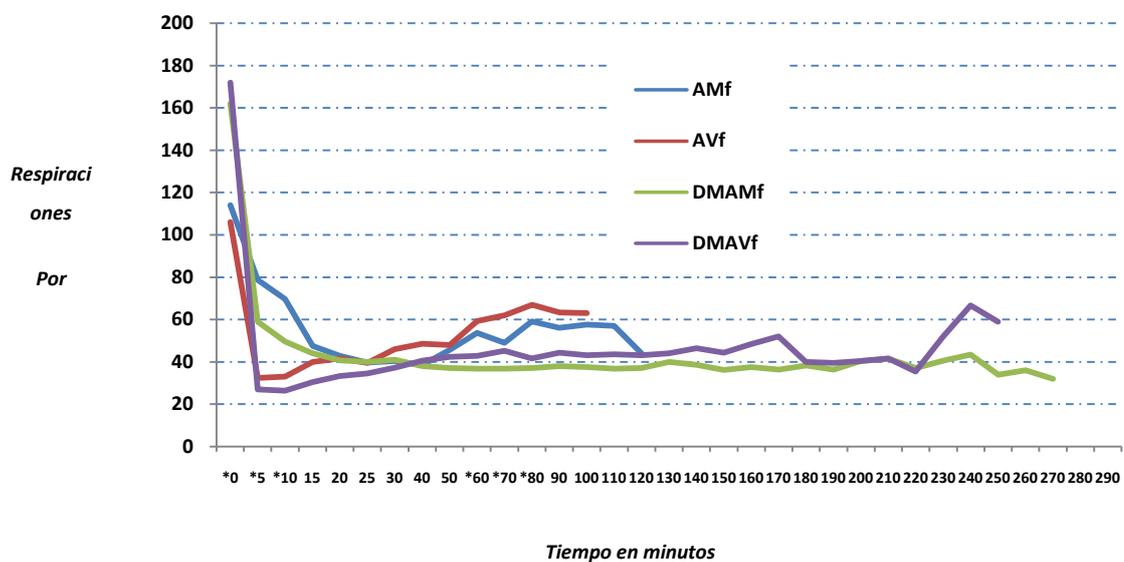
#### 4.1.7.2 FRECUENCIA RESPIRATORIA

La frecuencia respiratoria mostró un comportamiento similar en los 4 grupos, con una tendencia en “L”; es decir, con un descenso marcado a partir de los valores basales, para luego mantenerse o incrementarse ligeramente a lo largo de la sedación, como se muestra en la gráfica 8. Sin embargo, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales, así:

- Entre los grupos AMf y AVf a los minutos: 5 (p 0,003) y 10 (p 0,001).
- Entre los grupos AMf y DMAMf a los minutos: 0 (p 0,006), 10 (p 0,048), 60 (p 0,025) y 80 (p 0,032).
- Entre los grupos AMf y DMAVf a los minutos: 0 (p 0,001), 5 (p 0,002) y 10 (p 0,001).
- Entre los grupos AVf y DMAMf a los minutos: 0 (p 0,002), 60 (p 0,005), 70 (p 0,023) y 80 (p 0,004).

- Entre los grupos a AVf y DMAVf a los minutos: 0 (p 0,001), 60 (p 0,04) y 80 (p 0,012).
- Entre los grupos DMAMf y DMAVf a los minutos: 5 (p 0,031) y 10 (p 0,019).

La frecuencia respiratoria se dejó de registrar cuando el animal ya no reflejaba signos de sedación y sus valores se consideraron como cero (0) o normales, dado que el hecho de sujetar al animal o acercarse para registrar los datos, supondría un estrés y una alteración en los datos.



**Gráfica 8. Frecuencia respiratoria en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica.** Los tiempos que aparecen con un asterisco (\*), son aquellos donde se observan diferencias estadísticamente significativas entre grupos.

#### 4.1.7.3 EVENTOS DESTACABLES

Dentro de los eventos destacables en la experiencia farmacocinética y farmacodinámica, cabe mencionar la aparición de nistagmo vertical como respuesta al estímulo nociceptivo (clampado) en algunos animales; esto generalmente ocurría cuando el animal estaba profundamente sedado, pero sentía el estímulo doloroso. En otros animales ésta respuesta al clampado se manifestaba en forma de vocalización, produciendo un chillido único y uniforme.

En la tabla 6 se resumen los eventos destacables de la sedación/anestesia en la experiencia farmacológica.

**Tabla 6. Eventos destacables durante la experiencia farmacocinética/farmacodinámica**

| <u>EVENTO DESTACABLE</u>         | <u>NÚMERO DE ANIMALES</u> | <u>GRUPO</u> | <u>OBSERVACIONES</u>                        |
|----------------------------------|---------------------------|--------------|---|
| TEMBLOR LEVE                     | 1/5                       | AMf          | Cuando retornaba a la posición esternal     |
|                                  | 1/5                       | AVf          | Cuando retornaba a la posición esternal     |
| NISTAGMO VERTICAL INVOLUNTARIO   | 3/5                       | AVf          | 2 a los 5 minutos y 1 a los 6 minutos       |
|                                  | 1/5                       | DMAMf        | A los 15 minutos                            |
| NISTAGMO HORIZONTAL INVOLUNTARIO | 1/5                       | DMAVf        | A los 7 minutos                             |
|                                  | 1/5                       | DMAMf        | A los 5 minutos                             |
| CONGESTIÓN VENOSA                | 1/5                       | AVf          | Inmediatamente después de la administración |
| MICCIÓN                          | 1/5                       | DMAVf        | En la recuperación                          |
|                                  | 1/5                       | DMAMf        | En la recuperación                          |
| CIANOSIS                         | 1/5                       | DMAMf        | Transitoria                                 |
|                                  | 1/5                       | DMAVf        | Transitoria                                 |
| ARRITMIA                         | 1/5                       | DMAMf        | Del minuto 10 al 40, y del 70 al 90         |

#### 4.1.7.4 RECUPERACIÓN

Para valorar la recuperación se tuvo en cuenta el tiempo esternal y el tiempo en pie. El tiempo esternal se definió como el tiempo transcurrido entre la administración de la alfaxalona y el momento en que el animal retornaba a la posición esternal. De otro lado, el tiempo en pie se definió como el tiempo entre la administración de la alfaxalona y el momento en que el animal retornaba voluntariamente a la posición de pie, independientemente si lo hacía con la cabeza en alto o baja. La tabla 7

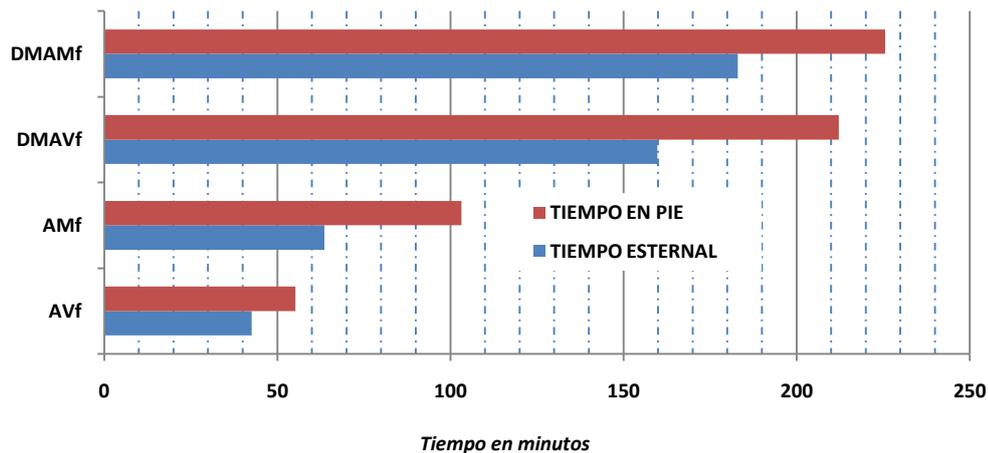
refleja los tiempos medios de la recuperación anestésica, y la gráfica 9 muestra el comportamiento observado en los grupos de la experiencia farmacocinética/farmacodinámica.

**Tabla 7. Tiempos de recuperación observados en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica. Los valores se expresan como  $X \pm SD$**

| <u>GRUPOS</u> | <u>TIEMPO ESTERNAL (MINUTOS)</u> | <u>TIEMPO EN PIE (MINUTOS)</u> |
|---------------|----------------------------------|--------------------------------|
| AMf           | 63,6 ( $\pm 13,08$ )             | 103,2 ( $\pm 17,23$ )          |
| AVf           | 42,6 ( $\pm 8,96$ )              | 55,2 ( $\pm 11,16$ )           |
| DMAMf         | 183 ( $\pm 17,29$ )              | 225,6 ( $\pm 28,77$ )          |
| DMAVf         | 159,8 ( $\pm 28,03$ )            | 212,2 ( $\pm 46,18$ )          |

El tiempo esternal durante la recuperación en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica no presentó diferencias estadísticamente significativas entre los grupos alfaxalona sola (AMf y AVf), ni tampoco entre los grupos alfaxalona combinada con dexmedetomidina (DMAMf y DMAVf). Por el contrario, sí que existieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos alfaxalona sola y alfaxalona combinada con dexmedetomidina, así:

- Entre los grupos AMf y DMAMf (p 0,001).
- Entre los grupos AMf y DMAVf (p 0,001).
- Entre los grupos AVf y DMAMf (p 0,001).
- Entre los grupos AVf y DMAVf (p 0,001).



**Gráfica 9. Valoración de la recuperación anestésica en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica**

El tiempo en pie mostró exactamente las mismas diferencias significativas entre los grupos que el tiempo esternal, sin mostrar diferencias estadísticamente significativas entre los grupos alfaxalona sola (AMf y AVf), ni tampoco entre los grupos alfaxalona combinada con dexmedetomidina (DMAMf y DMAVf). En cambio, sí que existieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos alfaxalona sola y alfaxalona combinada con dexmedetomidina, así:

- Entre los grupos AMf y DMAMf (p 0,001).
- Entre los grupos AMf y DMAVf (p 0,001).
- Entre los grupos AVf y DMAMf (p 0,001).
- Entre los grupos AVf y DMAVf (p 0,001).

Todos los animales (100%) objeto del estudio obtuvieron la máxima puntuación (4/0) en cuanto a la calidad de la recuperación, definiendo ésta como “recuperación muy suave, con quietud y confortable”.

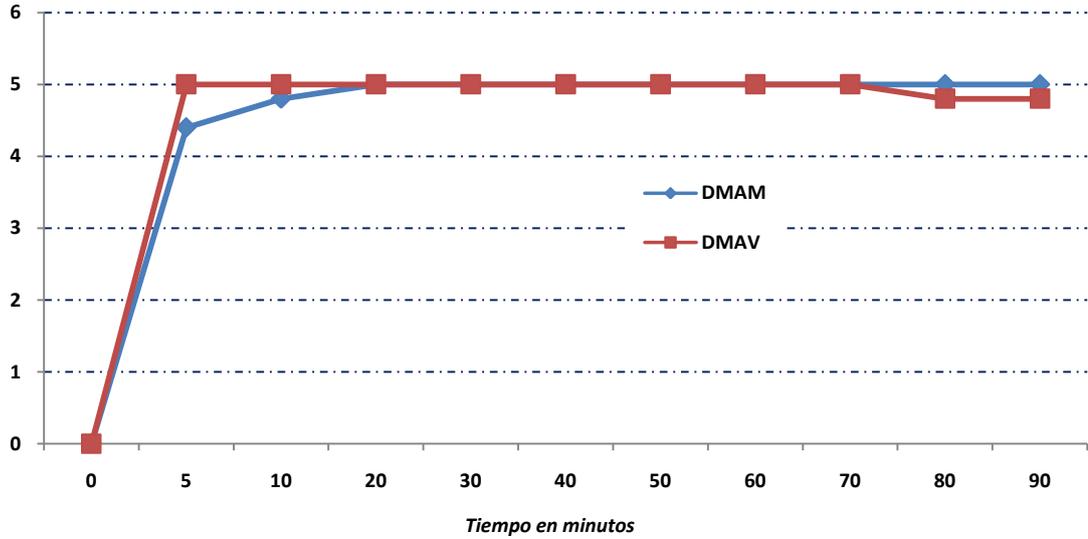
## **4.2 EXPERIENCIA 2. ESTUDIO CLÍNICO/ANESTÉSICO**

Para una mejor valoración, comparación y comprensión de los resultados de los efectos anestésicos entre los grupos experimentales en la experiencia clínico/anestésica, se tuvo en cuenta como “momento cero”, a aquel en el cual se administró la alfaxalona. Como ya se ha mencionado, al grupo DMAMa le fue administrada la alfaxalona intramuscular 15 minutos posteriores a la inyección de dexmedetomidina, en comparación con el grupo DMAVa al que la alfaxalona intravenosa le fue administrada inmediatamente después de la inyección intramuscular de dexmedetomidina.

### **4.2.1 Evaluación del grado de sedación**

#### **4.2.1.1 POSTURA ESPONTÁNEA**

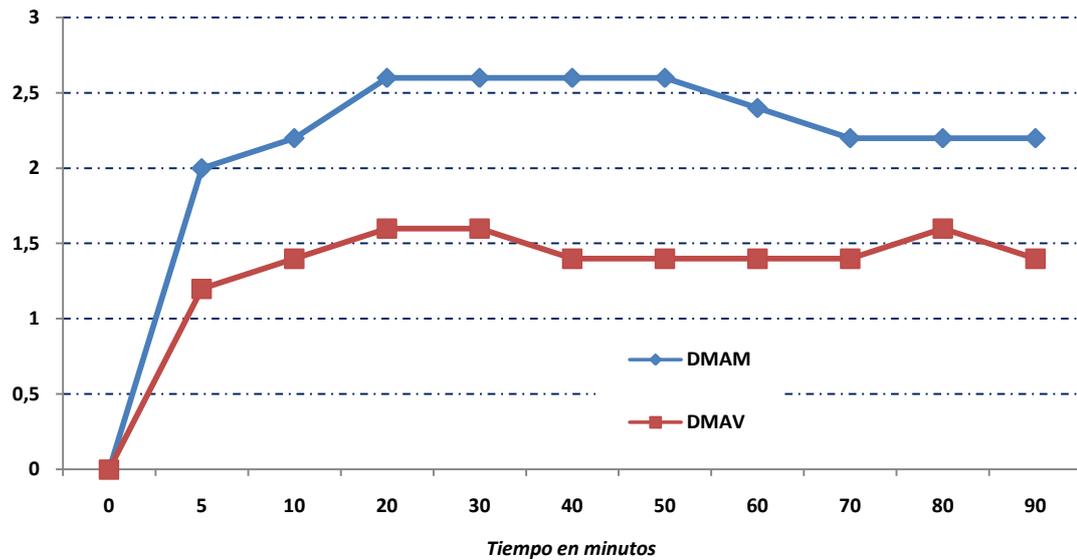
La valoración de la postura espontánea no evidenció diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) en la experiencia clínico/anestésica. Desde el minuto 20 hasta el minuto 70, el 100 % de los animales lograron la máxima puntuación, consistente en el decúbito lateral espontáneo o forzado sin capacidad de levantarse. Al minuto 10 solo 1 animal perteneciente al grupo DMAMa no había logrado la máxima puntuación (4 en escala de 0-5), y en el minuto 80 y 90 solamente en 1 animal perteneciente al grupo DMAVa descendió la puntuación máxima a 4 (en escala de 0-5); el resto de los animales conservaron la máxima puntuación. La gráfica 10 muestra el comportamiento de la postura espontánea en los grupos experimentales en la experiencia clínico/anestésica. La tabla 33 del Anexo muestra las frecuencias de la postura espontánea en la experiencia clínico/anestésica.



**Gráfica 10. Postura espontánea en la experiencia clínico/anestésica.** Eje Y: (0) Postura normal; (1) Signos suaves de sedación pero en pie; (2) Acostado en decúbito esternal con cabeza arriba; (3) Acostado en decúbito esternal con cabeza abajo; (4) Decúbito lateral espontáneo o forzado pero puede intentar incorporarse; (5) Decúbito lateral espontáneo o forzado pero es incapaz de levantarse.

#### 4.2.1.2 TONO MUSCULAR

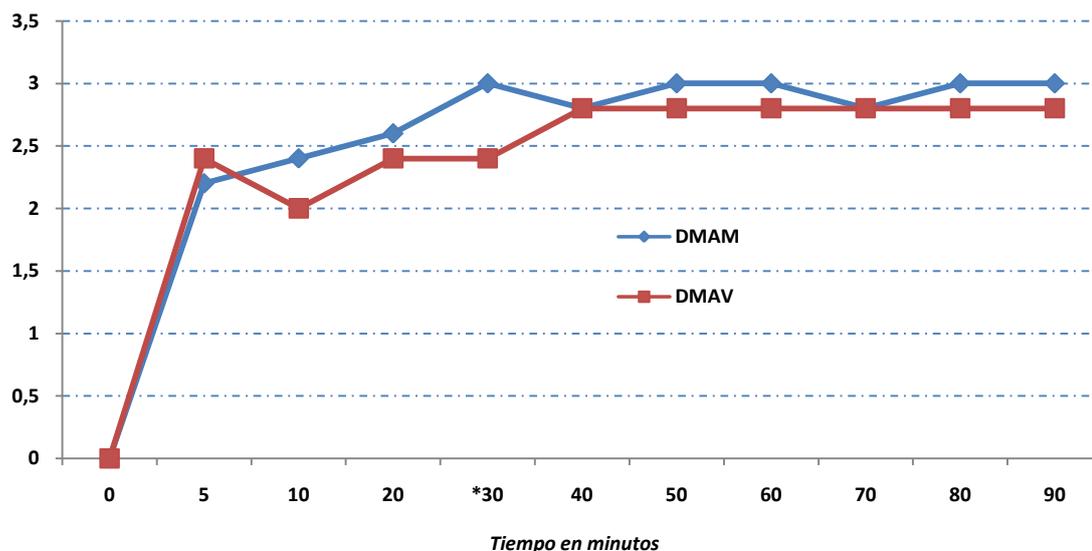
Tras evaluar el tono muscular, determinado por la capacidad para abrir la boca y sacar la lengua del animal, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ). A pesar de ello, en el grupo DMAMa se observaron mejores puntuaciones a lo largo de los 90 minutos de la experiencia que en el grupo DMAVa. En la gráfica 11 se observa el comportamiento del tono muscular en la experiencia clínico/anestésica. La tabla 34 del Anexo muestra las frecuencias del tono muscular en la experiencia clínico/anestésica.



**Gráfica 11. Tono muscular en la experiencia clínico/anestésica.** Eje Y: (0) Normal; (1) Ligeramente débil, no puede abrirse la boca o se hace con dificultad; (2) Débil, se puede abrir la boca sin dificultad; (3) Muy débil, la lengua puede sacarse y no es capaz de retraerla.

#### 4.2.1.3 RESPUESTA AL RUIDO

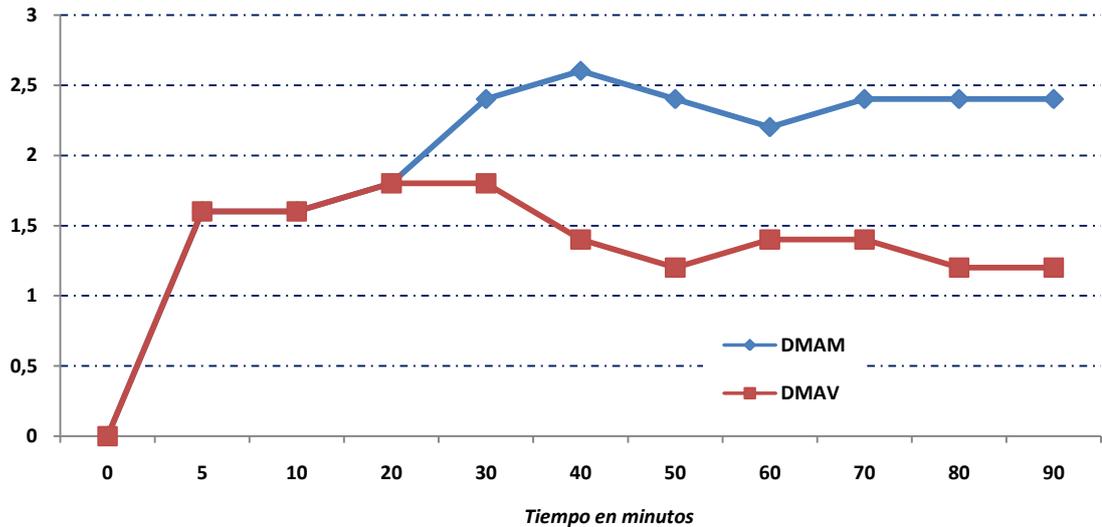
La respuesta al ruido únicamente mostró diferencias estadísticamente significativas en el minuto 30 de la experiencia ( $p < 0,05$ ); en el resto de la experiencia no se observaron. A partir del minuto 40 y hasta el 90 en el grupo DMAV se mostró constante la respuesta al ruido, mientras que en el grupo DMAM fluctuó ligeramente a partir del minuto 30, siendo muy similar el comportamiento en éste parámetro para ambos grupos. Dicho comportamiento en el tiempo, se observa en la gráfica 12. La tabla 35 del Anexo muestra las frecuencias de la respuesta al ruido en la experiencia clínico/anestésica.



**Gráfica 12. Respuesta al ruido en la experiencia clínico/anestésica.** Los tiempos que aparecen con un asterisco (\*), son aquellos donde se observan diferencias estadísticamente significativas entre grupos. Eje Y: (0) Sensible o normal; (1) Ligera; (2) Muy débil; (3) No reacciona.

#### 4.2.1.4 ANALGESIA DIGITAL

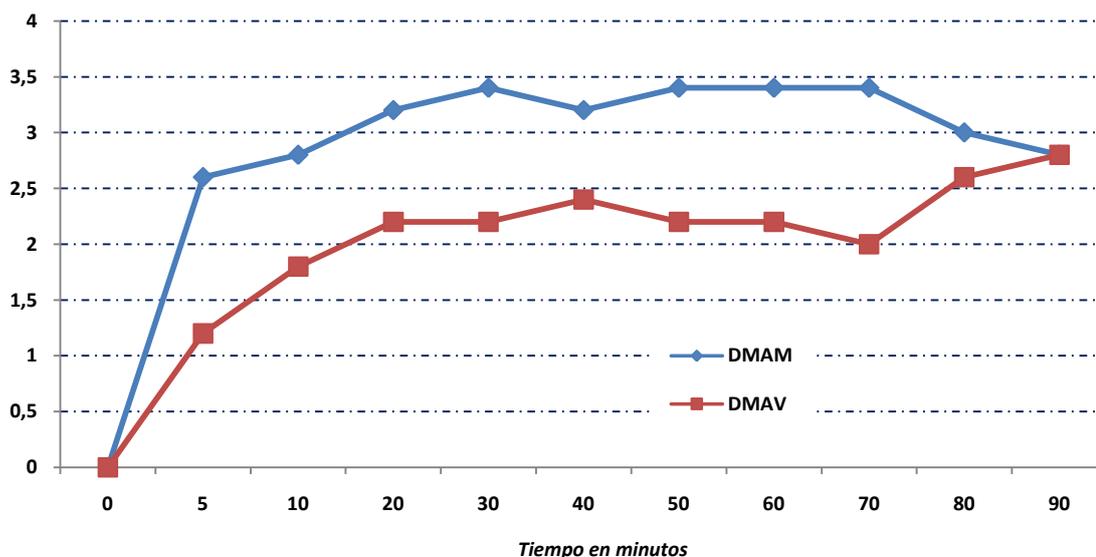
La analgesia digital valorada tras la respuesta del animal al clampado interdigital, no mostró diferencias estadísticamente significativas. A pesar de ello, la gráfica 13 muestra que a partir del minuto 20 se lograron mejores puntuaciones para el grupo DMAMa que en el grupo DMAVa, manteniéndose la constante a lo largo de la experiencia. La tabla 36 del Anexo muestra las frecuencias de la analgesia digital en la experiencia clínico/anestésica.



**Gráfico 13. Analgesia digital en la experiencia clínico/anestésica.** Eje Y: (0) Normal; (1) Responde a la presión ligera; (2) Responde a la presión moderada con respuesta lenta; (3) Responde a la presión cuando se cierra la pinza en el 1° diente; (4) No reacciona.

#### 4.2.1.5 ANALGESIA AURICULAR

Valorada como la respuesta del animal al pinzamiento en una oreja, no mostró diferencias estadísticamente significativas; a pesar de ello, se obtuvieron mejores puntuaciones en la escala de 0-4 en el grupo DMAM a lo largo de los primeros 70 minutos, para posteriormente verse como confluyen hacia el mismo grado de valoración en el minuto 90, tal como se refleja en la gráfica 14. La tabla 37 del Anexo muestra las frecuencias de la analgesia auricular en la experiencia clínico/anestésica.



**Gráfica 14. Analgesia auricular en la experiencia clínico/anestésica.** Eje Y: (0) Normal; (1) Responde a la presión ligera; (2) Responde a la presión moderada con respuesta lenta; (3) Responde a la presión cuando se cierra la pinza en el 1º diente; (4) No reacciona.

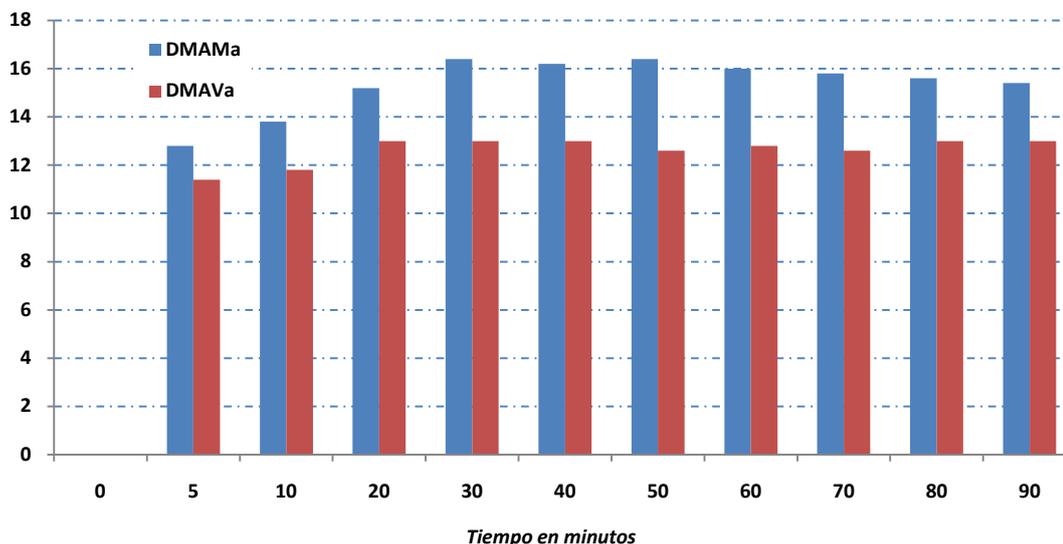
#### 4.2.1.6 ANESTESIA QUIRÚRGICA

Ninguno de los animales de la experiencia logró obtener el grado de anestesia quirúrgica, entendiéndose como tal a la ausencia de respuesta frente al pinzamiento de la raíz de la cola en la región perianal, dado su gran inervación y sensibilidad. Por lo tanto, no hubo parámetros de comparación entre los grupos en mención.

#### 4.2.1.7 GRADO DE SEDACIÓN TOTAL

Tras valorar el grado de sedación total en la experiencia clínico/anestésica, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos objeto del estudio. Clínicamente se observó un grado de sedación superior en el grupo DMAMa que en el DMAVa a lo largo de toda la experiencia (gráfica 15), teniendo en cuenta que al primer grupo mencionado se le administró la dexmedetomidina 15 minutos antes de la inyección intramuscular de alfaxalona; por el contrario, al otro grupo le fue administrada la alfaxalona por vía intravenosa, inmediatamente después de la inyección intramuscular de dexmedetomidina. Así mismo, ninguno de

los 2 grupos objeto del estudio alcanzó la máxima puntuación denominada como *anestesia quirúrgica*.



**Gráfica 15. Grado de sedación total en la experiencia clínico/anestésica.** Eje Y: (0) Sedación nula; (1-9) Sedación suave; (8-14) Sedación moderada; (15-19) Sedación profunda; (20) Anestesia quirúrgica.

#### 4.2.1.8 EFFECTOS DESTACABLES

Dentro de los efectos destacables se observó la aparición de mucosas cianóticas en 1 animal del total de individuos de toda la experiencia. Dicho individuo pertenecía al grupo DMAMa. La cianosis fue transitoria y se observó en el minuto 5 posterior a la administración de la Alfaxalona. Éste individuo presentó unos parámetros basales normales y dentro de la media de su grupo; sin embargo, se observó en él una depresión respiratoria importante. Sus valores de frecuencia respiratoria llegaron a descender hasta 14 respiraciones/minuto, siendo los valores más bajos de todos los individuos. Esta depresión respiratoria se correlacionó con su fracción espirada de CO<sub>2</sub> (más alta de su grupo), PCO<sub>2</sub> (más alta de todos los individuos), PO<sub>2</sub> (más baja de todos los individuos), y las presiones arteriales sistólica, diastólica y media (más alta que el resto de los individuos); igualmente, presentó la SPO<sub>2</sub> más baja de su grupo, posterior a la administración de Alfaxalona.

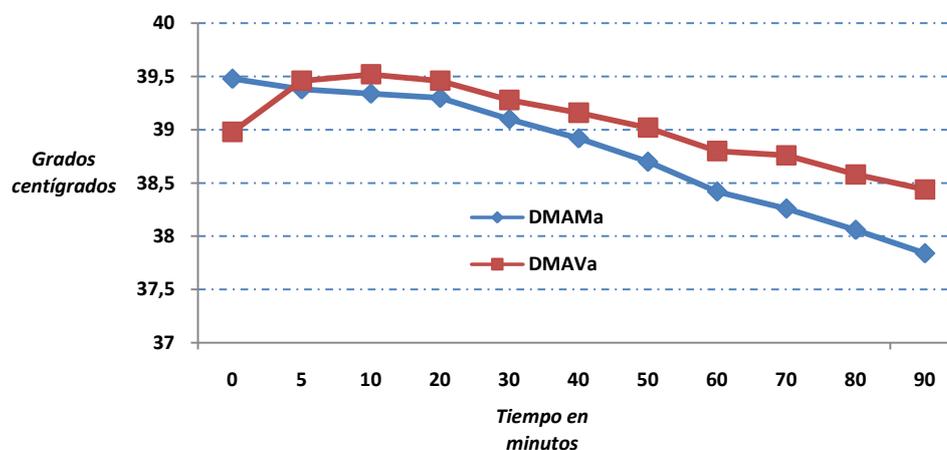
#### 4.2.1.9 OTROS EFECTOS

En esta experiencia, 1 animal perteneciente al grupo DMAMa presentó nistagmo vertical a los 10 minutos posteriores a la administración de alfaxalona, como respuesta al pinzamiento interdigital; este mismo animal también presentó un ligero movimiento involuntario (no pedaleo) de los miembros anteriores a los 54 minutos posteriores a la administración de la alfaxalona. En otro animal de este mismo grupo, se observaron mucosas cianóticas a los 5 minutos posteriores a la administración de la alfaxalona, la cual desapareció a los pocos minutos.

#### 4.2.2 Monitorización anestésica

##### 4.2.2.1 TEMPERATURA CORPORAL

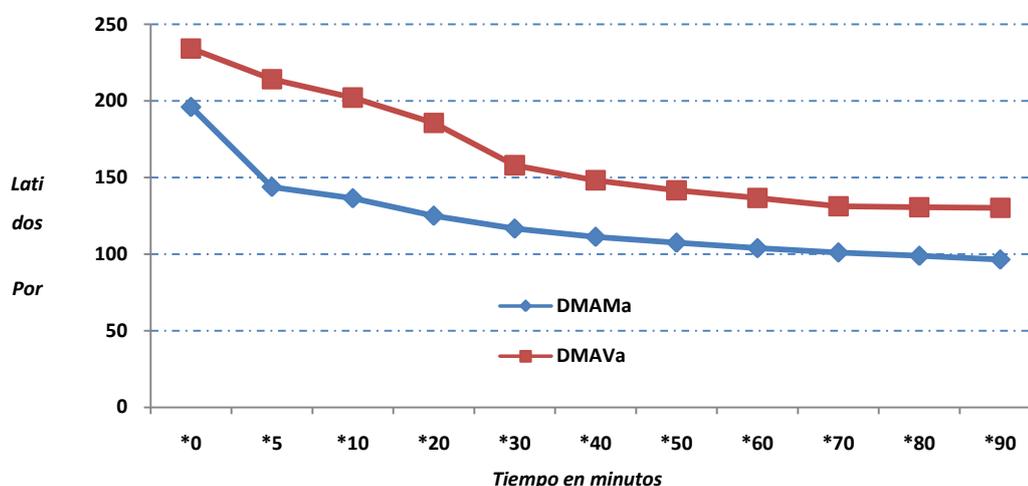
La temperatura corporal no evidenció diferencias estadísticamente significativas. A lo largo de la experiencia se observó que la temperatura en el grupo DMAVa fue ligeramente más alta que en el grupo DMAMa (gráfica 16), destacándose que en el grupo DMAVa se incrementaba hasta el minuto 10 postadministración de la Alfaxalona, para posteriormente descender paulatinamente. Por el contrario la tendencia en la temperatura para el grupo DMAMa siempre fue decreciente sin aumentos iniciales en la temperatura.



Gráfica 16. Temperatura en la experiencia clínico/anestésica

#### 4.2.2.2 FRECUENCIA CARDIACA

La frecuencia cardiaca en la experiencia clínico/anestésica tuvo un comportamiento similar en los dos grupos, a pesar de que al grupo DMAM (Dexmedetomidina intramuscular + Alfaxalona intramuscular) se le administrase la Dexmedetomidina 15 minutos antes de la aplicación de la Alfaxalona. Dicho comportamiento refleja un descenso progresivo de la frecuencia cardiaca, registrándose más baja en el grupo DMAMa que en el grupo DMAVa, siendo estadísticamente diferentes ( $p < 0,05$ ) a lo largo de toda la experiencia. Dichos resultados se plasman en la gráfica 17.

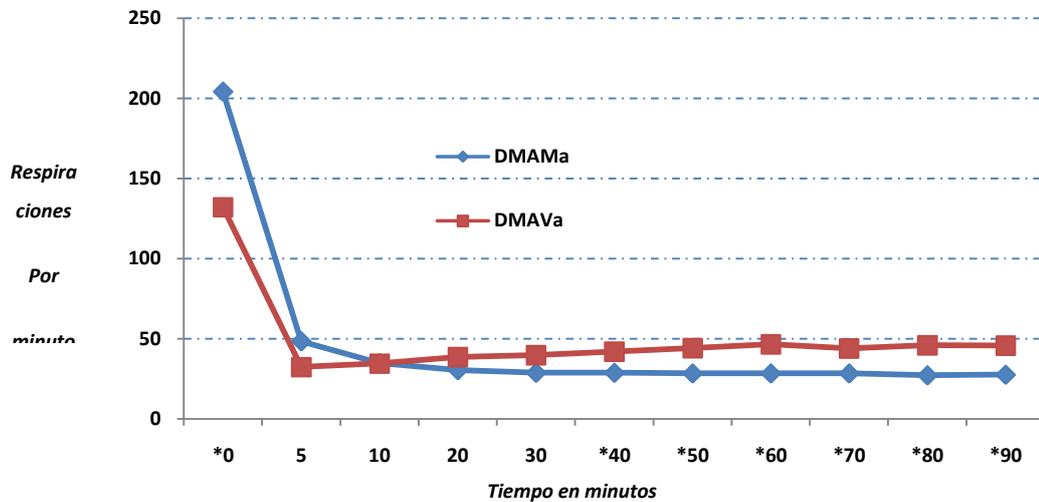


**Gráfica 17. Frecuencia cardiaca en la experiencia clínico/anestésica.** Los tiempos que aparecen con un asterisco (\*), son aquellos donde se observan diferencias estadísticamente significativas entre grupos.

#### 4.2.2.3 FRECUENCIA RESPIRATORIA

En esta experiencia la frecuencia respiratoria se caracterizó por una caída brusca y una posterior estabilización a lo largo de los 90 minutos monitorizados. En el grupo DMAMa la tendencia fue de un descenso brusco seguido de una estabilización con descensos apenas perceptibles. En el grupo DMAVa el descenso inicial fue brusco, seguido de un ligero incremento y estabilización a lo largo de los 90 minutos. Se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en los minutos 0, 40, 50, 60, 70, 80 y 90, donde la frecuencia fue más baja en el grupo DMAMa

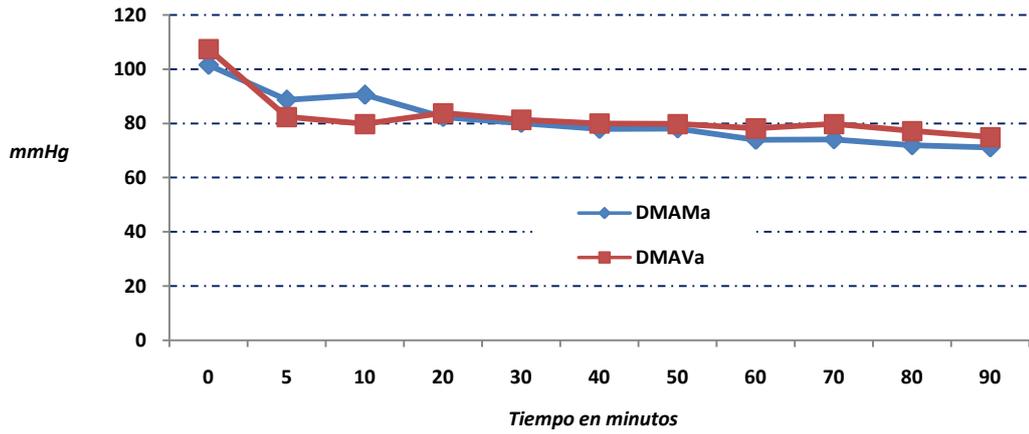
(Dexmedetomidina intramuscular + Alfaxalona intramuscular), tal como se refleja en la gráfica 18.



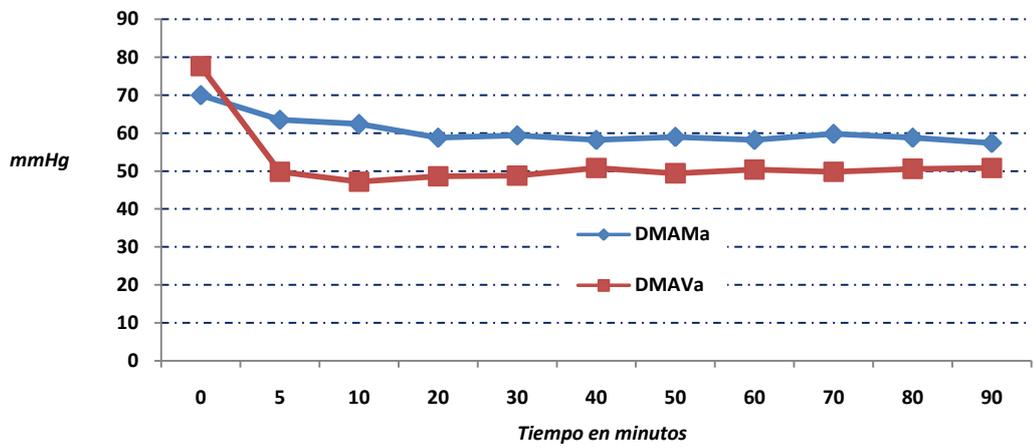
**Gráfica 18. Frecuencia respiratoria en la experiencia clínico/anestésica.** Los tiempos que aparecen con un asterisco (\*), son aquellos donde se observan diferencias estadísticamente significativas entre grupos.

#### 4.2.2.4 PRESIÓN ARTERIAL

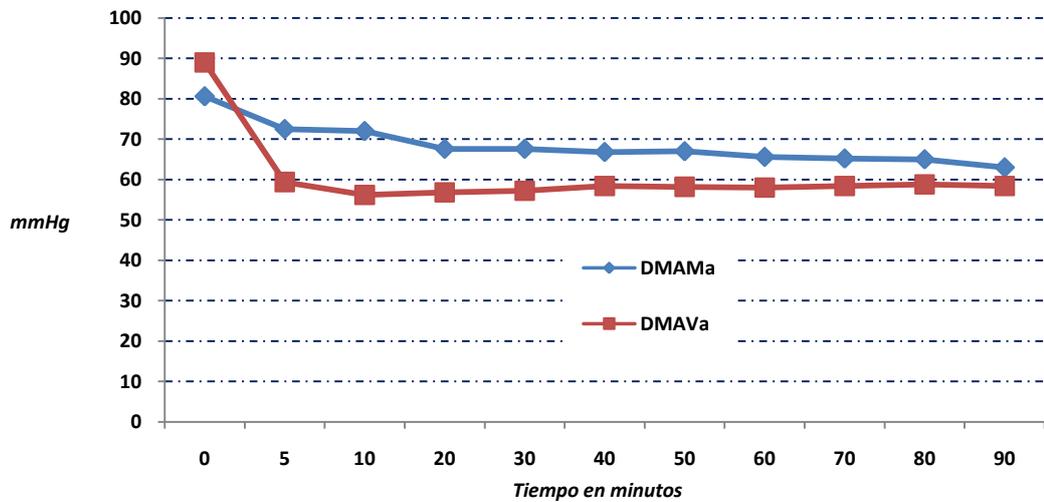
La valoración de las presiones arteriales sistólica, diastólica y media, no reveló diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en ninguno de los tiempos registrados. A pesar de que la presión arterial sistólica, diastólica y media en el grupo DMAVa disminuyó bruscamente con respecto a los valores basales durante los primeros 10 minutos posteriores a la administración de Alfaxalona, y especialmente durante los primeros 5, luego se incrementó ligeramente y se estabilizó a lo largo de la experiencia. En el grupo DMAMa también hubo una disminución pero más paulatina de las presiones, y luego se estabilizó igualmente, notándose en la gráfica que los valores para ambos grupos, prácticamente confluyen en el minuto 90. A continuación, en las gráficas 19, 20 y 21, se observa el comportamiento de la presión arterial sistólica, diastólica y media durante la experiencia clínico/anestésica.



Gráfica 19. Presión arterial sistólica en la experiencia clínico/anestésica



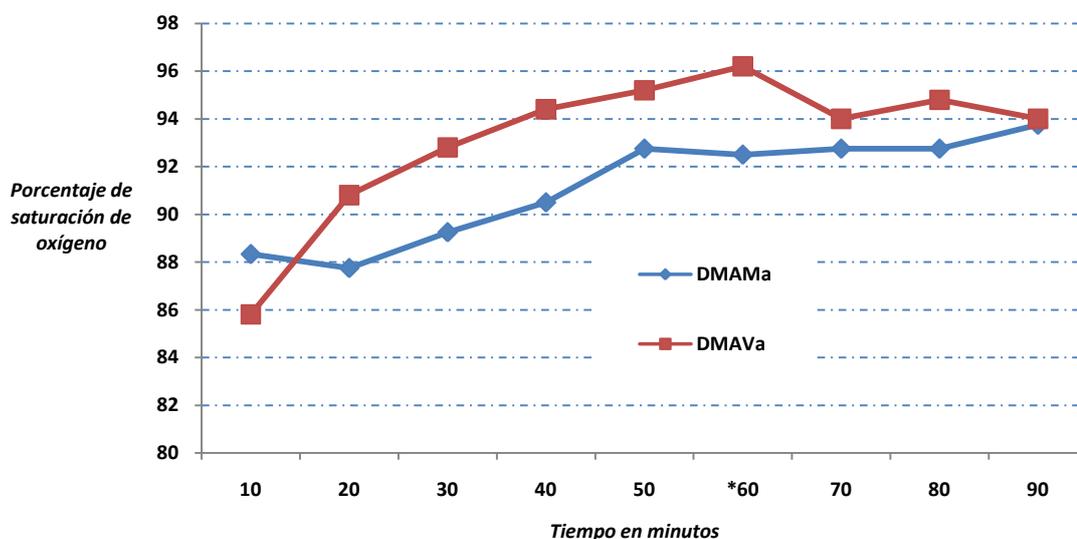
Gráfica 20. Presión arterial diastólica en la experiencia clínico/anestésica



Gráfica 21. Presión arterial media en la experiencia clínico/anestésica

#### 4.2.2.5 PULSIOXIMETRÍA

La valoración del porcentaje de hemoglobina saturada fue comparable a partir del minuto 10, donde los animales de ambos grupos toleraron la colocación de la sonda de pulsioximetría y los valores pudieron ser registrados; en esta ocasión por tanto no se obtuvieron datos basales. A pesar de ello, tras evaluar este parámetro únicamente se observó diferencia estadísticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ) en el minuto 60 ( $p = 0,011$ ), siendo ligeramente más baja en el grupo DMAMa (Dexmedetomidina intramuscular + Alfaxalona intramuscular) tal como se refleja en la gráfica 22. El comportamiento general para ambos grupos, fue de un ascenso progresivo del porcentaje de hemoglobina saturada, logrando una relativa estabilización entre los minutos 50 y 60 posteriores a la administración de Alfaxalona. La pulsioximetría, salvo la registrada en el minuto 10, siempre fue más alta en el grupo DMAVa.

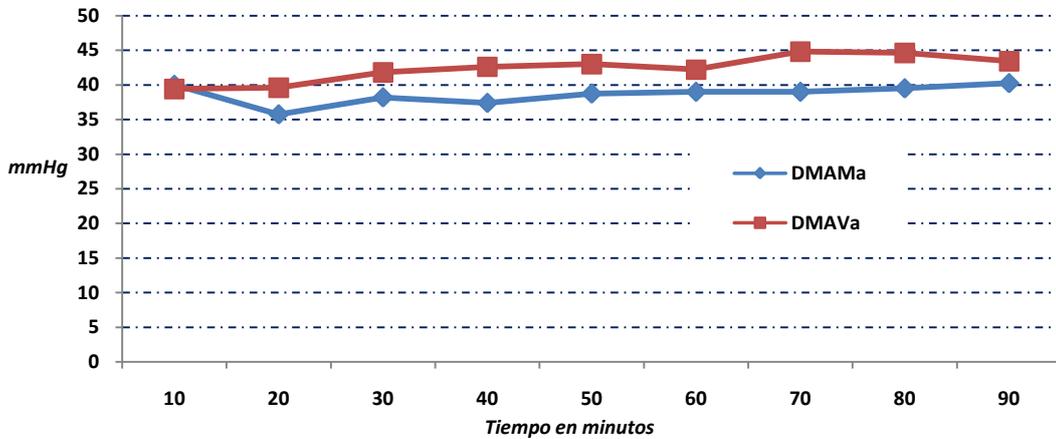


**Gráfica 22. Pulsioximetría en la experiencia clínico/anestésica.** Los tiempos que aparecen con un asterisco (\*), son aquellos donde se observan diferencias estadísticamente significativas entre grupos.

#### 4.2.2.6 CAPNOGRAFÍA

Los resultados de la capnografía (fracción espirada de  $CO_2$ ), no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). No obstante, los valores de la fracción espirada de  $CO_2$  se observaron

ligeramente más altos en el grupo DMAVa a lo largo de la experiencia. La gráfica 23 enseña el comportamiento de la capnografía a lo largo de la experiencia.

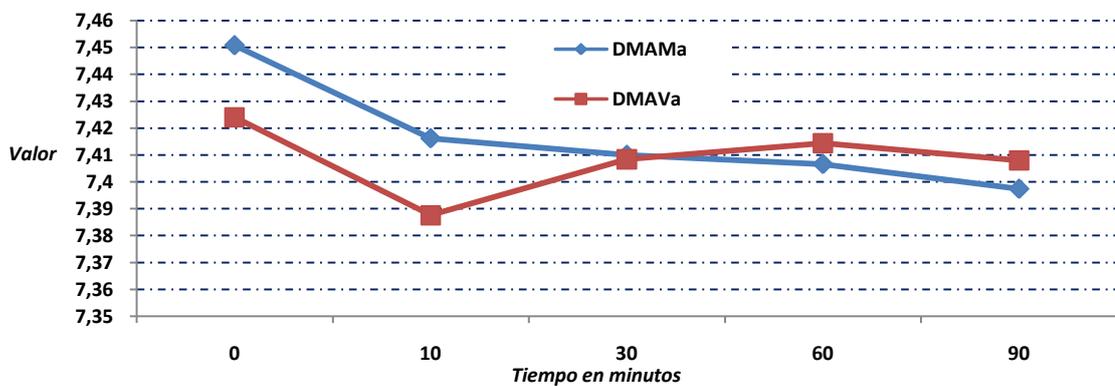


Gráfica 23. Capnografía en la experiencia clínico/anestésica

#### 4.2.2.7 GASOMETRÍA

##### 4.2.2.7.1 pH

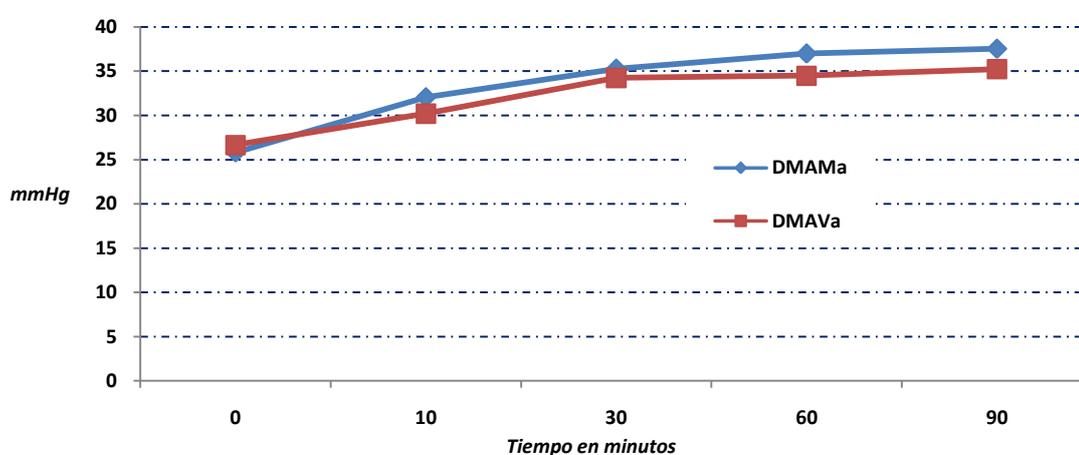
No se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en el pH arterial en ninguno de los tiempos registrados. Sin embargo el comportamiento a lo largo de la experiencia fue diferente para ambos grupos. En el grupo DMAMa fue siempre decreciente, mientras que en el grupo DMAVa fue decreciente hasta el minuto 10, posteriormente creciente hasta el minuto 60 y luego presentó un ligero descenso nuevamente. En la gráfica 24 se observa dicho comportamiento.



Gráfica 24. pH en la experiencia clínico/anestésica

#### 4.2.2.7.2 Presión parcial arterial de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) disuelta en sangre (PaCO<sub>2</sub>)

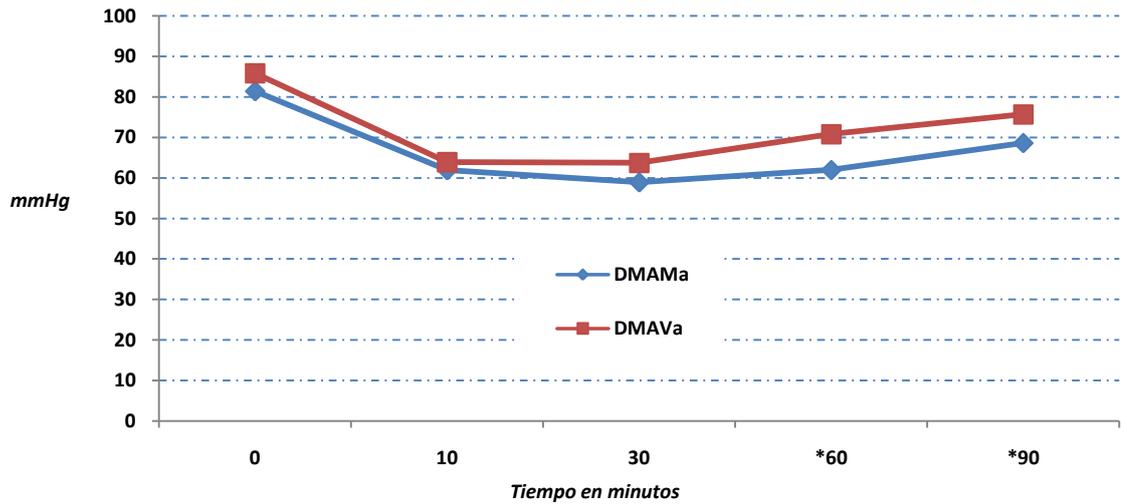
En el análisis de los gases arteriales, la presión parcial de CO<sub>2</sub> no se demostraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en ninguno de los tiempos registrados, notándose un comportamiento similar, mostrando una tendencia creciente y posterior estabilización. Dicho comportamiento se muestra en la gráfica 25.



Gráfica 25. PaCO<sub>2</sub> en la experiencia clínico/anestésica

#### 4.2.2.7.3 Presión parcial arterial de Oxígeno (PaO<sub>2</sub>)

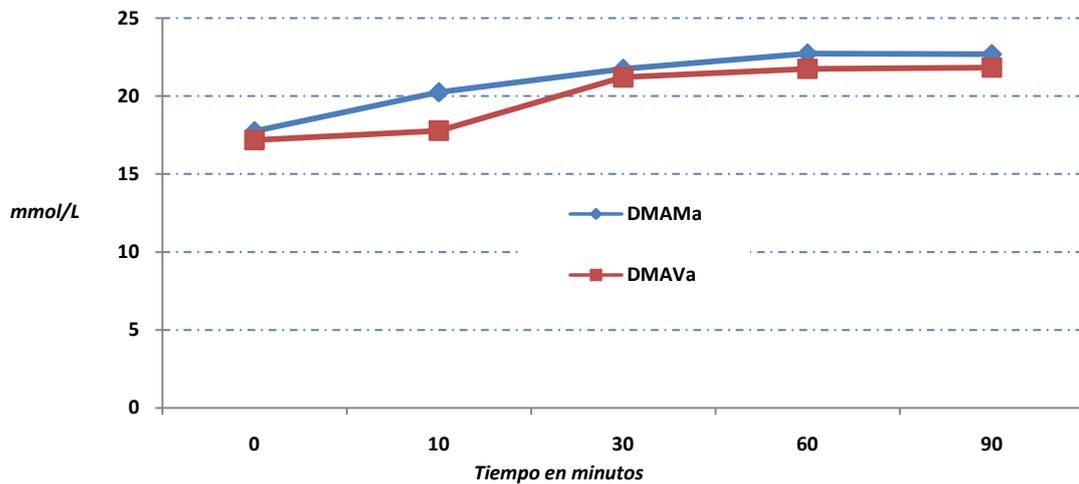
La presión arterial de oxígeno en la gasometría, evidenció diferencias estadísticamente significativas a los 60 ( $p 0,040$ ) y 90 ( $p 0,033$ ) minutos posteriores a la administración de la Alfaxalona, mostrándose más baja en el grupo DMAMa (Dexmedetomidina intramuscular + Alfaxalona intramuscular), lo cual persistió a lo largo de toda la experiencia. Este comportamiento se refleja en la gráfica 26.



Gráfica 26. PaO<sub>2</sub> en la experiencia clínico/anestésica. Los tiempos que aparecen con un asterisco (\*), son aquellos donde se observan diferencias estadísticamente significativas entre grupos.

#### 4.2.2.7.4 Bicarbonato (HCO<sub>3</sub>)

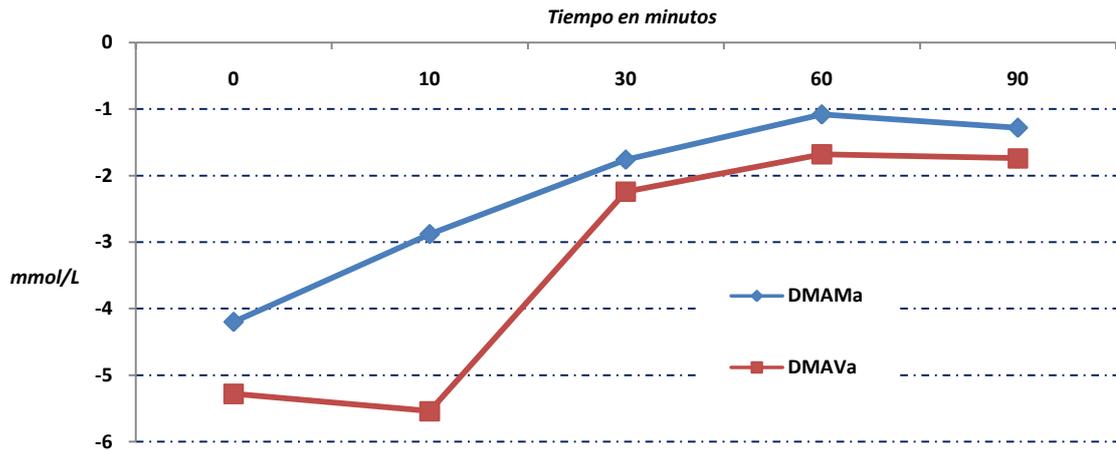
Los niveles de bicarbonato arterial no mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en ninguno de los tiempos registrados, sin embargo los valores siempre fueron ligeramente más bajos en el grupo DMAVa que en el DMAMa, tal como se refleja en la gráfica 27.



Gráfica 27. Niveles de Bicarbonato en la experiencia clínico/anestésica

#### 4.2.2.7.5 Exceso de bases arteriales (ABE)

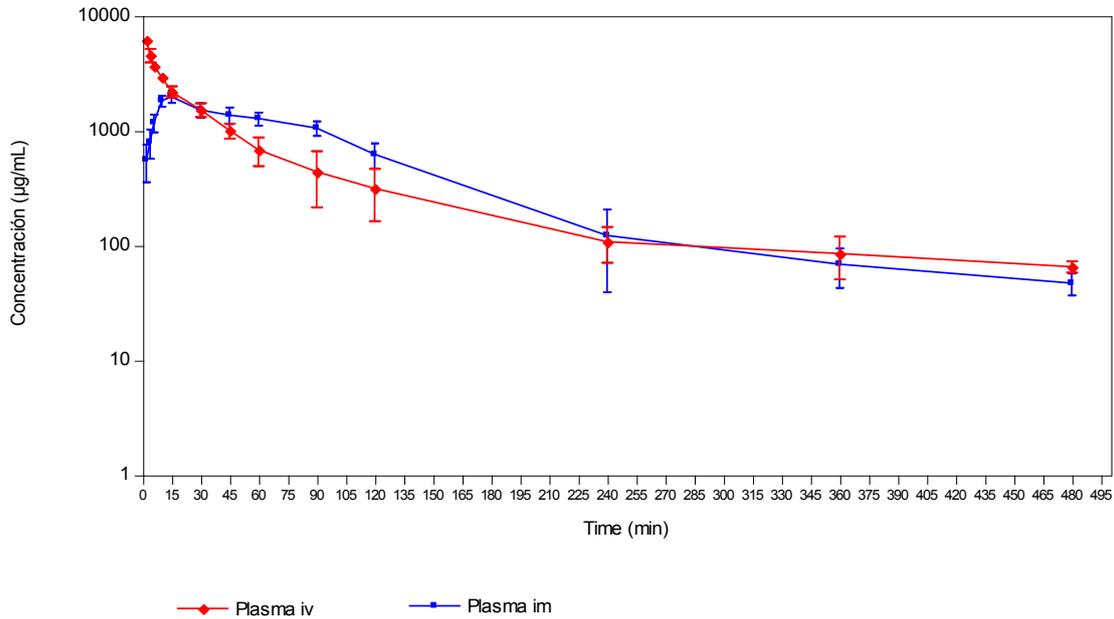
Tras analizar el exceso de bases arteriales, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), en ninguno de los tiempos registrados durante la experiencia clínico/anestésica, tal como lo refleja la gráfica 28.



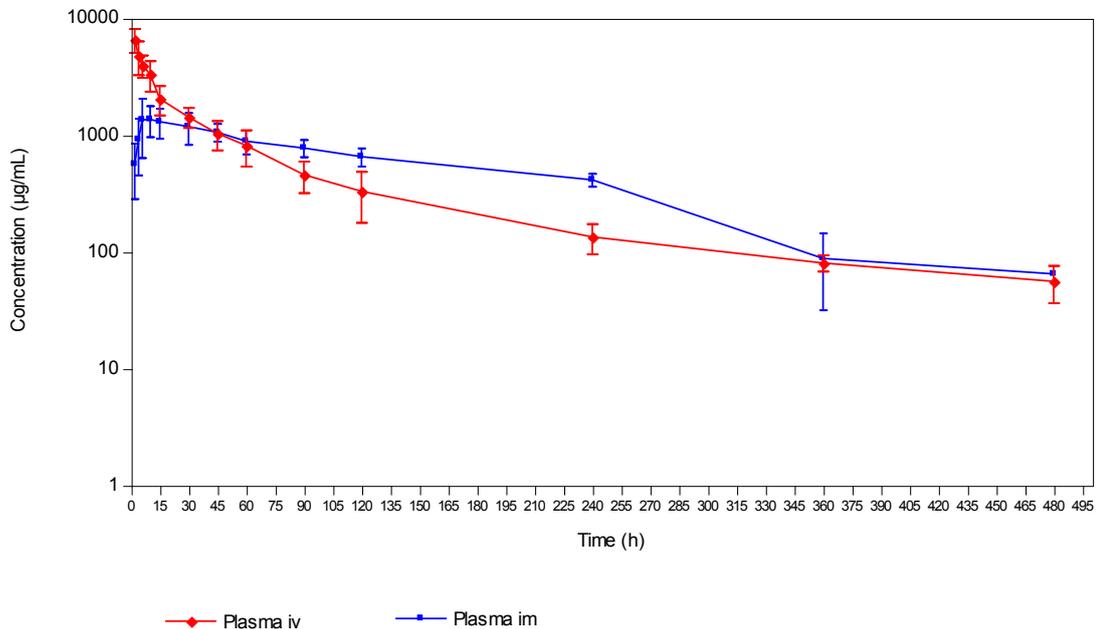
Gráfica 28. ABE en la experiencia clínico/anestésica

### 4.3 ANEXO DE RESULTADOS

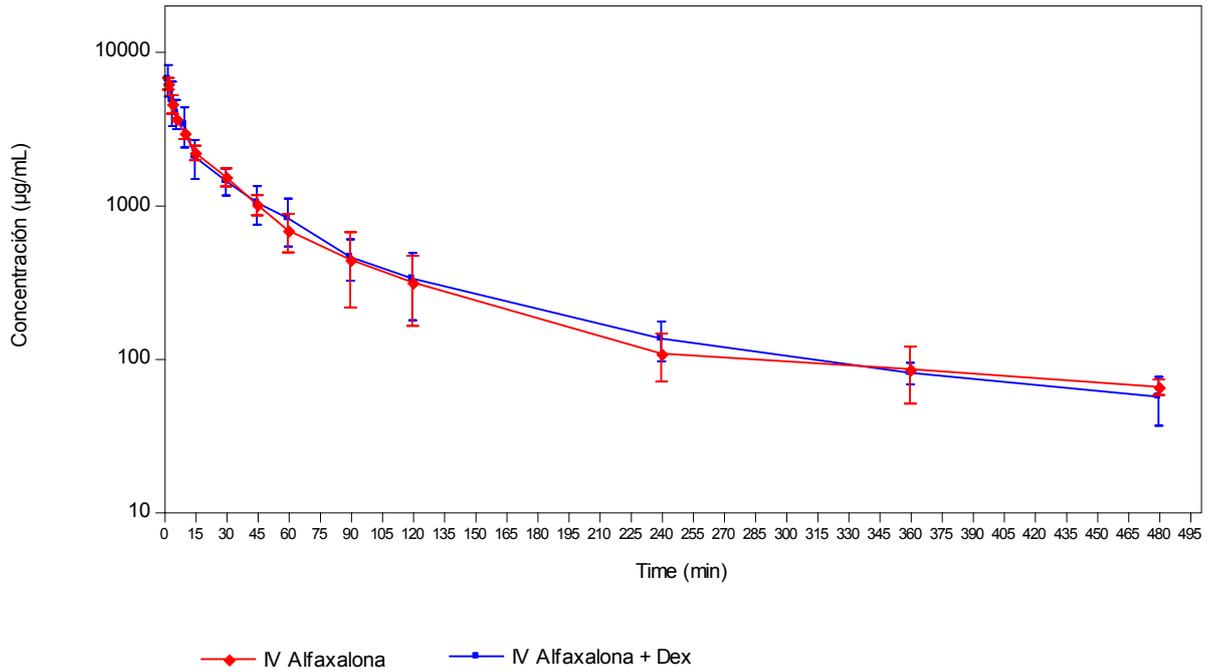
#### 4.3.1 Estudio farmacocinético/farmacodinámico



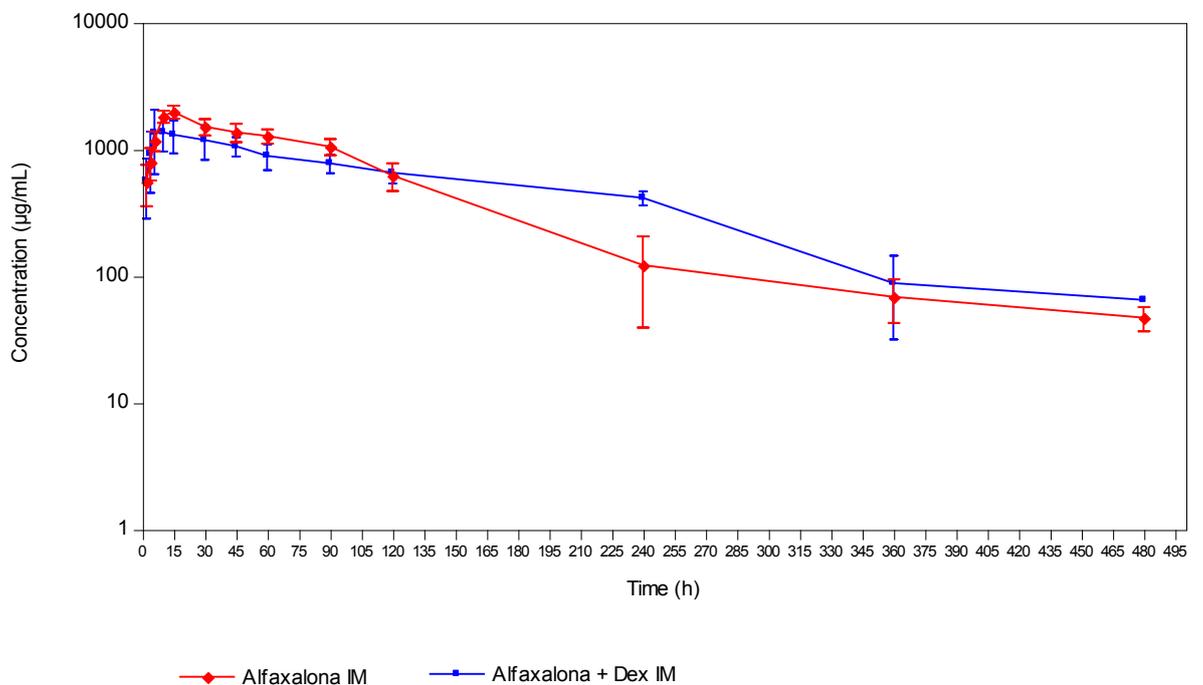
**Gráfico 1.** Concentraciones plasmáticas (media  $\pm$  SD) de alfaxalona tras su administración intravenosa e intramuscular en dosis única de 5 mg/kg a conejos



**Gráfico 2.** Concentraciones plasmáticas experimentales de alfaxalona (media  $\pm$  SD), en  $\mu\text{g/L}$ , en conejo tras la administración intravenosa e intramuscular de una dosis de 5 mg/kg en combinación con una inyección intramuscular de dexmedetomidina a dosis de 0.1 mg/kg



**Gráfico 3.** Concentraciones plasmáticas experimentales (media  $\pm$  SD), en  $\mu\text{g/L}$ , en conejo tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg de alfaxalona de forma única (Alfaxalona IV) y en combinación con una inyección intramuscular de dexmedetomidina a dosis de 0.1 mg/kg (Alfaxalona +Dex IV).



**Gráfico 4.** Concentraciones plasmáticas experimentales (media  $\pm$  SD), en  $\mu\text{g/L}$ , en conejo tras la administración intramuscular de una dosis de 5 mg/kg de alfaxalona de forma única (Alfaxalona IM) y en combinación con una inyección intramuscular de dexmedetomidina a dosis de 0.1 mg/kg (Alfaxalona +Dex IM).

| TIEMPO   | CONEJO 1 | CONEJO 2 | CONEJO 3 | CONEJO 4 | CONEJO 5 |
|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 0.033 h. | 5540.2   | 6568.7   | 6815.2   | 5746.3   | 6044.7   |
| 0.067 h. | 4121.3   | 4541.9   | 5357.6   | 3796.0   | 4872.5   |
| 0.1 h    | 3634.4   | 3516.9   | 3921.2   | 3715.7   | 3415.3   |
| 0.16 h.  | 2992.3   | 2785.8   | 3263.7   | 3004.6   | 2589.2   |
| 0.25 h.  | 2436.9   | 2223.5   | 2294.6   | 2161.8   | 1805.5   |
| 0.50 h.  | 1454.8   | 1783.2   | 1665.5   | 1255.5   | 1435.6   |
| 0.75 h.  | 814.3    | 1050.3   | 1049.4   | 899.9    | 1201.5   |
| 1.00 h.  | 482.7    | 706.3    | 914.1    | 492.4    | 812.1    |
| 1.50 h.  | 269.8    | 394.1    | 756.5    | 207.1    | 565.3    |
| 2.00 h.  | 287.5    | 288.5    | 568.4    | 170.3    | 250.1    |
| 4.00 h.  | 132.8    | 118.2    | 142.4    | 72.4     | 140.3    |
| 6.00 h.  | 65.3     | 97.8     | 109.8    | 68.5     | 115.1    |
| 8.00 h.  | 53.5     | 66.1     | 64.1     | 73.9     | 68.5     |

**Tabla 1.-** Concentraciones plasmáticas experimentales de alfaxalona, en µg/L, en cada conejo tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg.

| TIEMPO   | N | MEDIA   | S.D.  | S.E.  | C.V. | N.S.  |
|----------|---|---------|-------|-------|------|-------|
| 0.033 h. | 5 | 6142.99 | 539.3 | 241.2 | 8.78 | 0.996 |
| 0.067 h. | 5 | 4537.75 | 613.9 | 274.5 | 13.5 | 1.000 |
| 0.1 h    | 5 | 3640.63 | 194.0 | 86.78 | 5.33 | 0.984 |
| 0.16 h.  | 5 | 2927.07 | 253.8 | 113.5 | 8.67 | 0.990 |
| 0.25 h.  | 5 | 2184.26 | 235.5 | 105.3 | 10.7 | 0.882 |
| 0.50 h.  | 5 | 1518.80 | 207.2 | 92.70 | 13.6 | 0.967 |
| 0.75 h.  | 5 | 1003.07 | 150.0 | 67.09 | 14.9 | 0.967 |
| 1.00 h.  | 5 | 681.51  | 191.7 | 85.74 | 28.1 | 0.940 |
| 1.50 h.  | 5 | 438.52  | 224.2 | 100.2 | 51.1 | 0.997 |
| 2.00 h.  | 5 | 312.87  | 150.5 | 67.31 | 48.1 | 0.521 |
| 4.00 h.  | 5 | 121.49  | 29.27 | 13.09 | 24.0 | 0.957 |
| 6.00 h.  | 5 | 91.30   | 23.17 | 10.36 | 25.3 | 0.918 |
| 8.00 h.  | 5 | 65.21   | 7.51  | 3.36  | 11.5 | 0.933 |

**Tabla 2.-** Estadísticos de las concentraciones plasmáticas experimentales de alfaxalona, en µg/L y valores de significación para el test de Kolmogorov-Smirnov (N.S.), tras la administración de una dosis intravenosa de 5 mg/kg a conejos.

| CONEJOS | R <sup>2</sup> |
|---------|----------------|
| C1-C2   | 0.990          |
| C1-C3   | 0.989          |
| C1-C4   | 0.997          |
| C1-C5   | 0.981          |
| C2-C3   | 0.995          |
| C2-C4   | 0.990          |
| C2-C5   | 0.993          |
| C3-C4   | 0.987          |
| C3-C5   | 0.997          |
| C4-C5   | 0.980          |

**Tabla 3.-** Coeficiente de correlación de Pearson entre las diferentes cinéticas de concentración plasmática de alfaxalona en conejos, tras una dosis intravenosa de 5 mg/kg.

| PARÁMETROS         | UNIDADES             | CONEJO 1 | CONEJO 2 | CONEJO 3 | CONEJO 4 | CONEJO 5 |
|--------------------|----------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| $\lambda_z$        | h <sup>-1</sup>      | 0.5316   | 0.4303   | 0.4250   | 0.4041   | 0.3879   |
| $t_{1/2\lambda_z}$ | h                    | 1.3038   | 1.6109   | 1.6310   | 1.7155   | 1.7869   |
| $C_0$              | µg/L                 | 7447.07  | 9500.01  | 8669.43  | 8698.62  | 7499.67  |
| AUC                | µg·h/L               | 2783.92  | 3406.47  | 4163.39  | 2713.08  | 3420.26  |
| AUMC               | µg·h <sup>2</sup> /L | 3290.61  | 5476.44  | 7035.65  | 4119.17  | 6302.37  |
| MRT                | h                    | 1.1820   | 1.6077   | 1.6899   | 1.5183   | 1.8427   |
| CI                 | L/kg/h               | 1.7960   | 1.4678   | 1.2009   | 1.8429   | 1.4619   |
| $V_{ss}$           | L/kg                 | 2.1229   | 2.3597   | 2.0295   | 2.7980   | 2.6937   |
| $V_z$              | L/kg                 | 3.3784   | 3.4112   | 2.8258   | 4.5610   | 3.7686   |

**Tabla 4.-** Parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos para cada animal tras la administración intravenosa de alfaxalona a dosis de 5 mg/kg.

| PARÁMETROS         | N | MEDIA   | S.D.    | S.E.   | C.V.  | N.S.  |
|--------------------|---|---------|---------|--------|-------|-------|
| $\lambda_z$        | 5 | 0.4558  | 0.0562  | 0.0251 | 12.89 | 0.771 |
| $t_{1/2\lambda_z}$ | 5 | 1.6096  | 0.1848  | 0.0826 | 11.48 | 0.759 |
| $C_0$              | 5 | 8362.96 | 878.01  | 392.65 | 10.49 | 0.941 |
| AUC                | 5 | 3297.42 | 587.79  | 262.87 | 17.82 | 0.971 |
| AUMC               | 5 | 5244.85 | 1538.27 | 687.94 | 29.32 | 0.999 |
| MRT                | 5 | 1.5681  | 0.2466  | 0.1103 | 15.72 | 0.966 |
| CI                 | 5 | 1.5539  | 0.2658  | 0.1189 | 17.10 | 0.964 |
| $V_{ss}$           | 5 | 2.4008  | 0.3393  | 0.1517 | 14.13 | 0.987 |
| $V_z$              | 5 | 3.5890  | 0.6394  | 0.2860 | 17.82 | 0.979 |

**Tabla 5.-** Estadísticos de los parámetros no compartimentales obtenidos para cada animal y valores de significación para el test de Kolmogorov-Smirnov (N.S.), tras la administración intravenosa de alfaxalona a dosis de 5 mg/kg.

| TIEMPO   | CONEJO 1 | CONEJO 2 | CONEJO 3 | CONEJO 4 | CONEJO 5 |
|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 0.033 h. | 850.6    | 463.4    | 656.4    | 449.6    | 350.8    |
| 0.067 h. | 1165.3   | 653.6    | 857.3    | 639.2    | 653.6    |
| 0.1 h    | 1404.1   | 1283.0   | 942.1    | 1268.7   | 959.7    |
| 0.16 h.  | 1787.8   | 1692.7   | 1762.1   | 1678.4   | 2163.9   |
| 0.25 h.  | 2191.9   | 1839.4   | 2249.3   | 1825.1   | 1752.9   |
| 0.50 h.  | 1418.8   | 1454.9   | 1887.7   | 1440.6   | 1329.3   |
| 0.75 h.  | 1180.6   | 1162.6   | 1703.8   | 1469.0   | 1305.8   |
| 1.00 h.  | 1115.7   | 1483.4   | 1401.3   | 1148.6   | 1205.5   |
| 1.50 h.  | 834.7    | 1155.9   | 938.9    | 1141.6   | 1174.1   |
| 2.00 h.  | 384.1    | 649.5    | 627.3    | 635.2    | 809.7    |
| 4.00 h.  | 100.7    | 68.3     | 261.3    | 53.9     | 125.3    |
| 6.00 h.  | 57.8     | 61.8     | 113.1    | 47.4     | 61.8     |
| 8.00 h.  | 32.5     | 58.1     | 55.4     | 43.8     | 44.5     |

**Tabla 6.-** Concentraciones plasmáticas experimentales de alfaxalona, en µg/L, en cada conejo tras la administración intramuscular de una dosis de 5 mg/kg.

| TIEMPO   | N | MEDIA  | S.D.   | S.E.   | C.V.  | N.S.  |
|----------|---|--------|--------|--------|-------|-------|
| 0.033 h. | 5 | 554.03 | 199.36 | 89.16  | 35.98 | 0.843 |
| 0.067 h. | 5 | 793.79 | 226.53 | 101.31 | 28.54 | 0.742 |
| 0.1 h.   | 5 | 1171.5 | 208.24 | 93.13  | 17.77 | 0.829 |
| 0.16 h.  | 5 | 1817.0 | 199.30 | 89.13  | 10.97 | 0.801 |
| 0.25 h.  | 5 | 1971.7 | 230.45 | 103.06 | 11.69 | 0.709 |
| 0.50 h.  | 5 | 1506.1 | 218.44 | 97.69  | 14.50 | 0.878 |
| 0.75 h.  | 5 | 1364.1 | 225.58 | 100.88 | 16.53 | 0.987 |
| 1.00 h.  | 5 | 1270.7 | 162.37 | 72.61  | 12.78 | 0.904 |
| 1.50 h.  | 5 | 1049.0 | 153.05 | 68.45  | 14.59 | 0.732 |
| 2.00 h.  | 5 | 621.18 | 152.32 | 68.12  | 24.52 | 0.707 |
| 4.00 h.  | 5 | 121.91 | 82.75  | 37.01  | 67.88 | 0.816 |
| 6.00 h.  | 5 | 68.37  | 25.69  | 11.49  | 37.57 | 0.897 |
| 8.00 h.  | 5 | 46.78  | 10.17  | 4.55   | 21.73 | 0.993 |

**Tabla 7.-** Estadísticos de las concentraciones plasmáticas experimentales de alfaxalona, en µg/L y valores de significación para el test de Kolmogorov-Smirnov (N.S.), tras la administración de una dosis intramuscular de 5 mg/kg a conejos

| CONEJOS | R <sup>2</sup> |
|---------|----------------|
| C1-C2   | 0.919          |
| C1-C3   | 0.918          |
| C1-C4   | 0.923          |
| C1-C5   | 0.875          |
| C2-C3   | 0.934          |
| C2-C4   | 0.979          |
| C2-C5   | 0.952          |
| C3-C4   | 0.952          |
| C3-C5   | 0.916          |
| C4-C5   | 0.959          |

**Tabla 8.-** Coeficiente de correlación de Pearson entre las diferentes cinéticas de concentración plasmática de alfaxalona en conejos, tras una dosis intramuscular de 5 mg/kg.

| PARÁMETROS         | UNIDADES             | CONEJO 1 | CONEJO 2 | CONEJO 3 | CONEJO 4 | CONEJO 5 |
|--------------------|----------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| $\lambda_z$        | h <sup>-1</sup>      | 0.4076   | 0.3672   | 0.3714   | 0.2827   | 0.4706   |
| $t_{1/2\lambda_z}$ | h                    | 1.7007   | 1.8872   | 1.8662   | 2.4517   | 1.4730   |
| AUC                | µg·h/L               | 3165.43  | 3555.36  | 4309.37  | 3067.36  | 3731.41  |
| AUMC               | µg·h <sup>2</sup> /L | 5279.52  | 6395.92  | 9440.76  | 5617.57  | 6652.16  |
| MRT                | h                    | 1.6282   | 1.79.89  | 2.14.20  | 1.8314   | 1.7827   |
| MAT                | h                    | 0.4462   | 0.1912   | 0.4521   | 0.3131   | 0.1750   |
| C <sub>1</sub> /F  | L/kg/h               | 1.4857   | 1.4063   | 1.0923   | 1.6301   | 1.3400   |
| V <sub>z</sub> /F  | L/kg                 | 3.6452   | 3.8301   | 2.9410   | 5.7655   | 2.8476   |
| t <sub>max</sub>   | h                    | 0.25     | 0.25     | 0.25     | 0.25     | 0.1667   |
| C <sub>max</sub>   | µg/L                 | 1825.1   | 1839.4   | 2249.3   | 2191.9   | 2163.9   |
| F                  | %                    | 113.70   | 104.37   | 103.51   | 113.06   | 109.09   |

**Tabla 9.-** Parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos para cada animal tras la administración intramuscular de alfaxalona a dosis de 5 mg/kg.

| PARÁMETROS         | N | MEDIA   | S.D.    | S.E.   | C.V.  | N.S.  |
|--------------------|---|---------|---------|--------|-------|-------|
| $\lambda_z$        | 5 | 0.3799  | 0.0683  | 0.0305 | 17.97 | 0.960 |
| $t_{1/2\lambda_z}$ | 5 | 1.8759  | 0.3622  | 0.1620 | 19.30 | 0.803 |
| AUC                | 5 | 3659.38 | 569.12  | 254.52 | 15.55 | 0.994 |
| AUMC               | 5 | 6950.18 | 2103.45 | 940.69 | 30.26 | 0.737 |
| MRT                | 5 | 1.8717  | 0.2610  | 0.1167 | 13.94 | 0.718 |
| MAT                | 5 | 0.3155  | 0.1191  | 0.0523 | 10.22 | 0.942 |
| Cl/F               | 5 | 1.3909  | 0.1988  | 0.0889 | 14.30 | 0.988 |
| $V_z/F$            | 5 | 3.8059  | 1.1761  | 0.5260 | 30.90 | 0.786 |
| $t_{max}$          | 5 | 0.2333  | 0.0373  | 0.0167 | 15.97 | 1.000 |
| $C_{max}$          | 5 | 2053.93 | 204.75  | 91.57  | 9.97  | 0.743 |
| F                  | 5 | 108.75  | 4.24    | 1.95   | 8.56  | 0.966 |

**Tabla 10.-** Estadísticos de los parámetros no compartimentales obtenidos para cada animal y valores de significación para el test de Kolmogorov-Smirnov (N.S.), tras la administración intramuscular de alfaxalona a dosis de 5 mg/kg

| TIEMPO   | CONEJO 1 | CONEJO 2 | CONEJO 3 | CONEJO 4 | CONEJO 5 |
|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 0.033 h. | 5046.6   | 9060.9   | 6225.7   | 5825.3   | 6715.3   |
| 0.067 h. | 4168.6   | 6824.3   | 5936.8   | 3057.8   | 3982.9   |
| 0.1 h    | 3060.1   | 4620.4   | 5069.7   | 3647.5   | 3366.7   |
| 0.16 h.  | 2266.9   | 3600.1   | 3552.4   | 4682.6   | 2511.8   |
| 0.25 h.  | 1805.7   | 1268.6   | 2692.5   | 2543.6   | 1939.9   |
| 0.50 h.  | 1213.1   | 1383.9   | 1298.6   | 1914.6   | 1326.3   |
| 0.75 h.  | 720.4    | 967.5    | 1051.1   | 1501.5   | 916.3    |
| 1.00 h.  | 350.5    | 842.8    | 926.7    | 1107.3   | 852.9    |
| 1.50 h.  | 262.7    | 371.5    | 496.3    | 563.9    | 587.8    |
| 2.00 h.  | 143.9    | 197.4    | 363.8    | 483.6    | 462.2    |
| 4.00 h.  | 102.6    | 99.9     | 158.1    | 190.5    | 121.4    |
| 6.00 h.  | 61.3     | 96.6     | 79.1     | 83.7     | 85.7     |
| 8.00 h.  | 43.8     | 33.9     | 66.7     | 65.2     | 51.2     |

**Tabla 11.-** Concentraciones plasmáticas experimentales de alfaxalona, en  $\mu\text{g/L}$ , en cada conejo tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg concomitantemente con una inyección intramuscular de dexmedetomidina a dosis de 0.1 mg/kg.

| TIEMPO   | N | MEDIA  | S.D.   | S.E.   | C.V.  | N.S.  |
|----------|---|--------|--------|--------|-------|-------|
| 0.033 h. | 5 | 6574.7 | 1518.1 | 678.95 | 23.09 | 0.879 |
| 0.067 h. | 5 | 4794.0 | 1540.4 | 688.89 | 32.13 | 0.897 |
| 0.1 h    | 5 | 3952.8 | 855.39 | 382.54 | 21.64 | 0.881 |
| 0.16 h.  | 5 | 3322.7 | 968.41 | 433.09 | 29.14 | 0.989 |
| 0.25 h.  | 5 | 2050.0 | 578.54 | 258.73 | 28.22 | 0.986 |
| 0.50 h.  | 5 | 1427.3 | 279.28 | 124.90 | 19.57 | 0.809 |
| 0.75 h.  | 5 | 1031.3 | 289.58 | 129.50 | 28.08 | 0.851 |
| 1.00 h.  | 5 | 816.04 | 281.02 | 125.67 | 34.44 | 0.750 |
| 1.50 h.  | 5 | 456.44 | 137.06 | 61.29  | 30.03 | 0.976 |
| 2.00 h.  | 5 | 330.18 | 153.64 | 68.71  | 46.53 | 0.984 |
| 4.00 h.  | 5 | 134.42 | 39.02  | 17.45  | 29.03 | 0.950 |
| 6.00 h.  | 5 | 80.38  | 12.83  | 5.74   | 15.96 | 0.887 |
| 8.00 h.  | 5 | 55.98  | 19.72  | 8.82   | 35.22 | 0.874 |

**Tabla 12.-** Estadísticos de las concentraciones plasmáticas experimentales de alfaxalona, en µg/L y valores de significación para el test de Kolmogorov-Smirnov (N.S.), tras la administración de una dosis intravenosa de 5 mg/kg a conejos concomitantemente con una inyección intramuscular de dexmedetomidina a dosis de 0.1 mg/kg

| CONEJOS | R <sup>2</sup> |
|---------|----------------|
| C1-C2   | 0.909          |
| C1-C3   | 0.986          |
| C1-C4   | 0.982          |
| C1-C5   | 0.979          |
| C2-C3   | 0.906          |
| C2-C4   | 0.885          |
| C2-C5   | 0.921          |
| C3-C4   | 0.960          |
| C3-C5   | 0.951          |
| C4-C5   | 0.981          |

**Tabla 13.-** Coeficiente de correlación de Pearson entre las diferentes cinéticas de concentración plasmática de alfaxalona en conejos, tras una dosis intravenosa de 5 mg/kg, en combinación con una inyección intramuscular de dexmedetomidina a dosis de 0.1 mg/kg.

| PARÁMETROS         | UNIDADES             | CONEJO 1 | CONEJO 2 | CONEJO 3 | CONEJO 4 | CONEJO 5 |
|--------------------|----------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| $\lambda_z$        | h <sup>-1</sup>      | 0.2794   | 0.3121   | 0.3174   | 0.3261   | 0.3784   |
| $t_{1/2\lambda_z}$ | h                    | 2.4807   | 2.2234   | 2.1829   | 2.1259   | 1.8317   |
| C <sub>0</sub>     | µg/L                 | 6109.53  | 12030.52 | 6528.66  | 11097.56 | 11322.22 |
| AUC                | µg·h/L               | 2541.24  | 3326.08  | 3830.25  | 4318.42  | 3687.06  |
| AUMC               | µg·h <sup>2</sup> /L | 5732.09  | 5166.30  | 6814.48  | 6938.45  | 7904.32  |
| MRT                | h                    | 2.2719   | 1.5564   | 1.8861   | 1.7682   | 2.1438   |
| Cl                 | L/kg/h               | 1.9675   | 1.5033   | 1.3054   | 1.1578   | 1.3561   |
| V <sub>ss</sub>    | L/kg                 | 4.4381   | 2.3332   | 2.3254   | 1.8625   | 2.9177   |
| V <sub>z</sub>     | L/kg                 | 7.2563   | 4.8267   | 4.1121   | 2.5414   | 6.3125   |

**Tabla 14.-** Parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos para cada animal tras la administración intravenosa de alfaxalona a dosis de 5 mg/kg concomitantemente con una inyección intramuscular de dexmedetomidina a dosis de 0.1 mg/kg.

| PARÁMETROS         | N | MEDIA   | S.D.    | S.E.    | C.V.  | N.S.  |
|--------------------|---|---------|---------|---------|-------|-------|
| $\lambda_z$        | 5 | 0.3227  | 0.1011  | 0.0452  | 33.61 | 0.883 |
| $t_{1/2\lambda z}$ | 5 | 2.1689  | 0.7034  | 0.3504  | 31.22 | 0.960 |
| $C_0$              | 5 | 9417.69 | 2853.35 | 1276.06 | 30.29 | 0.721 |
| AUC                | 5 | 3540.61 | 662.40  | 296.23  | 18.71 | 0.995 |
| AUMC               | 5 | 6511.13 | 1075.99 | 481.20  | 16.52 | 0.979 |
| MRT                | 5 | 1.9252  | 0.3168  | 0.1417  | 16.96 | 0.998 |
| CI                 | 5 | 1.4580  | 0.3128  | 0.1414  | 21.29 | 0.931 |
| $V_{ss}$           | 5 | 2.7753  | 1.0023  | 0.4526  | 36.15 | 0.858 |
| $V_z$              | 5 | 5.0098  | 2.6823  | 1.2012  | 30.25 | 1.000 |

**Tabla 15.-** Estadísticos de los parámetros no compartimentales obtenidos para cada animal y valores de significación para el test de Kolmogorov-Smirnov (N.S.), tras la administración intravenosa de alfaxalona a dosis de 5 mg/kg.concomitantemente con una inyección intramuscular de dexmedetomidina a dosis de 0.1 mg/kg .

| TIEMPO   | CONEJO 1 | CONEJO 2 | CONEJO 3 | CONEJO 4 | CONEJO 5 |
|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 0.033 h. | 952.5    | 278.5    | 525.9    | 331.4    | 725.6    |
| 0.067 h. | 1281.8   | 644.9    | 684.8    | 443.1    | 1523.4   |
| 0.1 h.   | 1419.6   | 799.9    | 1639.3   | 535.8    | 2324.4   |
| 0.16 h.  | 1534.1   | 1365.8   | 1166.2   | 838.9    | 1926.3   |
| 0.25 h.  | 1344.6   | 1444.8   | 940.6    | 919,5    | 1831,2   |
| 0.50 h.  | 1203.2   | 1435.9   | 789.8    | 870.3    | 1632.3   |
| 0.75 h.  | 1054.9   | 1255.1   | 817.9    | 946.6    | 1221.1   |
| 1.00 h.  | 860.9    | 1145.6   | 574.4    | 948.4    | 925.2    |
| 1.50 h.  | 766.2    | 831.6    | 564.9    | 919.6    | 795.2    |
| 2.00 h.  | 652.5    | 706.2    | 506.3    | 811.6    | 585.1    |
| 4.00 h.  | 396.9    | 407.7    | 366.6    | 504.3    | 393.1    |
| 6.00 h.  | 75.6     | 37.2     | 180.8    | 51.3     | 95.2     |
| 8.00 h.  | 63.9     | -        | 75.2     | -        | 65.3     |

**Tabla 16.-** Concentraciones plasmáticas experimentales de alfaxalona, en  $\mu\text{g/L}$ , en cada conejo tras la administración intramuscular de una dosis de 5 mg/kg, concomitantemente con una inyección intramuscular de dexmedetomidina a dosis de 0.1 mg/kg .

| TIEMPO   | N | MEDIA  | S.D.   | S.E.   | C.V.  | N.S.  |
|----------|---|--------|--------|--------|-------|-------|
| 0.033 h. | 5 | 562.79 | 280.23 | 125.32 | 49.79 | 0.991 |
| 0.067 h. | 5 | 915.52 | 461.75 | 206.49 | 50.43 | 0.790 |
| 0.1 h    | 5 | 1343.8 | 707.69 | 316.49 | 52.66 | 0.997 |
| 0.16 h.  | 5 | 1366.2 | 406.08 | 181.60 | 29.72 | 1.000 |
| 0.25 h.  | 5 | 1301.8 | 373.39 | 166.99 | 28.68 | 0.962 |
| 0.50 h.  | 5 | 1186.2 | 359.97 | 160.98 | 30.34 | 0.980 |
| 0.75 h.  | 5 | 1059.1 | 184.04 | 82.30  | 17.38 | 0.980 |
| 1.00 h.  | 5 | 888.62 | 205.68 | 91.98  | 23.15 | 0.931 |
| 1.50 h.  | 5 | 775.46 | 131.08 | 58.62  | 16.90 | 0.854 |
| 2.00 h.  | 5 | 652.32 | 116.33 | 52.02  | 17.83 | 1.000 |
| 4.00 h.  | 5 | 413.72 | 52.84  | 23.63  | 12.77 | 0.772 |
| 6.00 h.  | 5 | 88.03  | 56.45  | 25.24  | 64.13 | 0.917 |
| 8.00 h.  | 3 | 64.60  | 9.99   | 3.70   | 5.53  | 0.998 |

**Tabla 17.-** Estadísticos de las concentraciones plasmáticas experimentales de alfaxalona, en µg/L y valores de significación para el test de Kolmogorov-Smirnov (N.S.), tras la administración de una dosis intramuscular de 5 mg/kg a conejo concomitantemente con una inyección intramuscular de dexmedetomidina a dosis de 0.1 mg/kg

| CONEJOS | R <sup>2</sup> |
|---------|----------------|
| C1-C2   | 0.707          |
| C1-C3   | 0.873          |
| C1-C4   | 0.462          |
| C1-C5   | 0.952          |
| C2-C3   | 0.544          |
| C2-C4   | 0.874          |
| C2-C5   | 0.682          |
| C3-C4   | 0.320          |
| C3-C5   | 0.945          |
| C4-C5   | 0.387          |

**Tabla 18.-** Coeficiente de correlación de Pearson entre las diferentes cinéticas de concentración plasmática de alfaxalona en conejos, tras una dosis intramuscular de 5 mg/kg en combinación con una inyección intramuscular de dexmedetomidina a dosis de 0.1 mg/kg

| PARÁMETROS         | UNIDADES             | CONEJO 1 | CONEJO 2 | CONEJO 3 | CONEJO 4 | CONEJO 5 |
|--------------------|----------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| $\lambda_z$        | h <sup>-1</sup>      | 0.2594   | 0.4538   | 0.5512   | 0.5858   | 0.4181   |
| $t_{1/2\lambda_z}$ | h                    | 2.6748   | 1.5906   | 1.2511   | 1.1832   | 1.6584   |
| AUC                | µg·h/L               | 3542.54  | 3994.91  | 3757.39  | 3771.68  | 3705.07  |
| AUMC               | µg·h <sup>2</sup> /L | 13426.12 | 9033.86  | 8883.17  | 7604.30  | 8860.62  |
| MRT                | h                    | 3.7900   | 2.4613   | 2.3640   | 2.0262   | 2.3915   |
| MAT                | h                    | 1.5181   | 0.6931   | 0.4779   | 0.4698   | 0.2477   |
| Cl/F               | L/kg/h               | 1.4114   | 1.2516   | 1.3307   | 1.3257   | 1.3495   |
| V <sub>Z</sub> /F  | L/kg                 | 5.4408   | 2.8721   | 2.4005   | 2.2631   | 3.2281   |
| t <sub>max</sub>   | h                    | 0.10     | 0.10     | 0.25     | 0.25     | 0.1667   |
| C <sub>max</sub>   | µg/L                 | 1639.3   | 2324.40  | 948.4    | 1444.8   | 1534.1   |
| F                  | %                    | 118.68   | 92.51    | 98.10    | 113.40   | 100.49   |

**Tabla 19.-** Parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos para cada animal tras la administración intramuscular de alfaxalona a dosis de 5 mg/kg concomitantemente con una inyección intramuscular de dexmedetomidina a dosis de 0.1 mg/kg.

| PARÁMETROS         | N | MEDIA   | S.D.    | S.E.   | C.V.  | N.S.  |
|--------------------|---|---------|---------|--------|-------|-------|
| $\lambda_z$        | 5 | 0.4545  | 0.1292  | 0.0578 | 28.46 | 0.993 |
| $t_{1/2\lambda_z}$ | 5 | 1.6709  | 0.5964  | 0.2667 | 35.69 | 0.727 |
| AUC                | 5 | 3754.56 | 162.38  | 72.62  | 4.32  | 0.895 |
| AUMC               | 5 | 9562.05 | 2235.66 | 999.82 | 23.38 | 0.879 |
| MRT                | 5 | 2.5646  | 0.7008  | 0.3134 | 27.33 | 0.859 |
| MAT                | 5 | 0.6813  | 0.4415  | 0.1720 | 31.71 | 0.793 |
| CI/F               | 5 | 1.2828  | 0.1636  | 0.6120 | 12.75 | 0.927 |
| $V_z/F$            | 5 | 3.1067  | 1.3685  | 0.6120 | 38.05 | 0.745 |
| $t_{max}$          | 5 | 0.1733  | 0.0751  | 0.0336 | 31.31 | 0.922 |
| $C_{max}$          | 5 | 1578.20 | 494.20  | 221.02 | 31.31 | 0.912 |
| F                  | 5 | 105.84  | 11.64   | 4.32   | 9.25  | 0.890 |

**Tabla 20.-** Estadísticos de los parámetros no compartimentales obtenidos para cada animal y valores de significación para el test de Kolmogorov-Smirnov (N.S.), tras la administración intramuscular de alfaxalona a dosis de 5 mg/kg en combinación con una inyección intramuscular de dexmedetomidina a dosis de 0.1 mg/kg .

| PARÁMETROS         | UNIDAD              | IV              | IM                                 | IV ALFAX+DEX                     | IM ALFAX+DEX                       |
|--------------------|---------------------|-----------------|------------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|
| $\lambda_z$        | $h^{-1}$            | 0.456 ± 0.056   | 0.3802 ± 0.068                     | <b>0.323 ± 0.101<sup>c</sup></b> | 0.454 ± 0.129                      |
| $t_{1/2\lambda_z}$ | H                   | 1.610 ± 0.185   | 1.876 ± 0.362                      | <b>2.169 ± 0.703<sup>c</sup></b> | 1.672 ± 0.596                      |
| $C_0$              | $\mu g/L$           | 8363.0 ± 878.0  |                                    | 9417.7 ± 2853.4                  |                                    |
| AUC                | $\mu g \cdot h/L$   | 3297.4 ± 587.8  | <b>3659.4 ± 569.1<sup>a</sup></b>  | 3540.6 ± 662.4                   | 3754.6 ± 162.5                     |
| AUMC               | $\mu g \cdot h^2/L$ | 5244.8 ± 1538.3 | <b>6950.2 ± 2013.4<sup>a</sup></b> | 6511.1 ± 1076.0                  | <b>9562.0 ± 2235.6<sup>b</sup></b> |
| MRT                | H                   | 1.568 ± 0.247   | 1.872 ± 0.261                      | <b>1.955 ± 0.317<sup>c</sup></b> | <b>2.565 ± 0.701<sup>bd</sup></b>  |
| MAT                | h                   |                 | 0.315 ± 0.119                      |                                  | <b>0.681 ± 0.442<sup>d</sup></b>   |
| CI/F               | $L/kg \cdot h$      | 1.554 ± 0.266   | <b>1.391 ± 0.199<sup>a</sup></b>   | 1.458 ± 0.313                    | 1.283 ± 0.164                      |
| $V_{ss}$           | L/kg                | 2.401 ± 0.340   |                                    | 2.775 ± 1.002                    |                                    |
| $V_z/F$            | L/kg                | 3.589 ± 0.639   | 3.806 ± 1.176                      | 5.010 ± 2.682                    | 3.107 ± 1.369                      |
| $T_{m\acute{a}x}$  | H                   |                 | 0.233 ± 0.037                      |                                  | 0.173 ± 0.075                      |
| $C_{m\acute{a}x}$  | $\mu g/L$           |                 | 2053.9 ± 204.7                     |                                  | 1578.2 ± 494.2                     |
| F                  | %                   |                 | 108.7 ± 4.2                        |                                  | 105.8 ± 11.6                       |

<sup>a</sup> P<0.05 entre vías IV e IM tras administración de alfaxalona sola.

<sup>b</sup> P<0.05 entre vías IV e IM tras administración de alfaxalona combinada con dexmedetomidina.

<sup>c</sup> P<0.05 entre vías intravenosas tras administración de alfaxalona sola o combinada con dexmedetomidina.

<sup>d</sup> P<0.05 entre vías intramusculares tras administración de alfaxalona sola o combinada con dexmedetomidina

**Tabla 21.-** Resumen del estudio comparativo paramétrico (t-Student) y no paramétrico (Test de Wilcoxon) entre los parámetros farmacocinéticos no compartimentales, entre las vías intravenosa e intramuscular tras la administración de alfaxalona sola a una dosis de 5 mg/kg o en combinación con la administración intramuscular de dexmedetomidina a dosis de 0.1 mg/kg.

**Tabla 22. Frecuencias de los valores de postura espontánea, observados en los distintos grupos experimentales en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica**

| TIEMPO (MIN) | VALORACIÓN | GRUPOS EXPERIMENTALES |     |       |       |
|--------------|------------|-----------------------|-----|-------|-------|
|              |            | AMf                   | AVf | DMAMf | DMAVf |
| 2            | 0          | 5                     |     | 3     |       |
|              | 1          |                       |     | 1     |       |
|              | 2          |                       |     |       |       |
|              | 3          |                       |     |       |       |
|              | 4          |                       |     |       |       |
|              | 5          |                       | 5   | 1     | 5     |
| 5            | 0          | 2                     |     |       |       |
|              | 1          | 3                     |     | 1     |       |
|              | 2          |                       |     | 1     |       |
|              | 3          |                       |     |       |       |
|              | 4          |                       |     |       |       |
|              | 5          |                       | 5   | 3     | 5     |
| 10           | 0          |                       |     |       |       |
|              | 1          | 1                     |     |       |       |
|              | 2          | 1                     |     |       |       |
|              | 3          |                       |     |       |       |
|              | 4          | 2                     |     |       |       |
|              | 5          | 1                     | 5   |       | 5     |
| 15           | 0          |                       |     |       |       |
|              | 1          |                       |     |       |       |
|              | 2          |                       |     |       |       |
|              | 3          | 1                     |     |       |       |
|              | 4          | 1                     |     |       |       |
|              | 5          | 3                     | 5   | 5     | 5     |
| 30           | 0          |                       |     |       |       |
|              | 1          |                       |     |       |       |
|              | 2          |                       |     |       |       |
|              | 3          |                       |     |       |       |
|              | 4          |                       |     |       |       |
|              | 5          | 5                     | 5   | 5     | 5     |
| 45           | 0          |                       |     |       |       |
|              | 1          |                       | 1   |       |       |
|              | 2          | 1                     | 2   |       |       |
|              | 3          |                       |     |       |       |
|              | 4          |                       | 1   |       |       |
|              | 5          | 4                     | 1   | 5     | 5     |
| 60           | 0          |                       | 1   |       |       |
|              | 1          | 1                     | 3   |       |       |
|              | 2          | 1                     | 1   |       |       |
|              | 3          | 2                     |     |       |       |
|              | 4          | 1                     |     |       |       |
|              | 5          |                       |     | 5     | 5     |
| 120          | 0          | 5                     | 5   |       |       |
|              | 1          |                       |     |       |       |
|              | 2          |                       |     |       |       |

|     |   |   |   |   |   |
|-----|---|---|---|---|---|
|     | 3 |   |   |   | 1 |
|     | 4 |   |   |   |   |
|     | 5 |   |   | 5 | 4 |
| 240 | 0 | 5 | 5 | 1 | 2 |
|     | 1 |   |   | 3 | 2 |
|     | 2 |   |   |   |   |
|     | 3 |   |   |   | 1 |
|     | 4 |   |   | 1 |   |
| 360 | 5 |   |   |   |   |
|     | 0 | 5 | 5 | 5 | 5 |
|     | 1 |   |   |   |   |
|     | 2 |   |   |   |   |
|     | 3 |   |   |   |   |
| 480 | 4 |   |   |   |   |
|     | 5 |   |   |   |   |
|     | 0 | 5 | 5 | 5 | 5 |
|     | 1 |   |   |   |   |
|     | 2 |   |   |   |   |
|     | 3 |   |   |   |   |
|     | 4 |   |   |   |   |
|     | 5 |   |   |   |   |

Escala de valoración: (0) Postura normal; (1) Signos suaves de sedación pero en pie; (2) Acostado en decúbito esternal con cabeza arriba; (3) Acostado en decúbito esternal con cabeza abajo; (4) Decúbito lateral espontáneo o forzado pero puede intentar incorporarse; (5) Decúbito lateral espontáneo o forzado pero es incapaz de levantarse.

**Tabla 23. Diferencias estadísticamente significativas de la postura espontánea en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica, entre los grupos objeto del estudio**

| <u>AMf</u><br>Vs.<br><u>AVf</u> |        | <u>AMf</u><br>Vs.<br><u>DMAMf</u> |        | <u>AMf</u><br>Vs.<br><u>DMAVf</u> |        | <u>AVf</u><br>Vs.<br><u>DMAMf</u> |        | <u>AVf</u><br>Vs.<br><u>DMAVf</u> |        | <u>DMAMf</u><br>Vs.<br><u>DMAVf</u> |        |
|---------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-------------------------------------|--------|
| TIEMPO                          | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                              | P≤0,05 |
| 5                               | 0,007  | 5                                 | 0,022  | 2                                 | 0,005  | 2                                 | 0,05   | 40                                | 0,018  | 2                                   | 0,017  |
| 10                              | 0,031  | 10                                | 0,031  | 5                                 | 0,007  | 40                                | 0,018  | 45                                | 0,018  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 60                                | 0,005  | 10                                | 0,018  | 45                                | 0,018  | 50                                | 0,019  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 70                                | 0,007  | 60                                | 0,005  | 50                                | 0,019  | 60                                | 0,006  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 80                                | 0,005  | 70                                | 0,007  | 60                                | 0,006  | 70                                | 0,007  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 90                                | 0,005  | 80                                | 0,005  | 70                                | 0,007  | 80                                | 0,007  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 100                               | 0,006  | 90                                | 0,005  | 80                                | 0,007  | 90                                | 0,016  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 110                               | 0,014  | 100                               | 0,006  | 90                                | 0,016  | 100                               | 0,025  | -                                   | -      |
| -                               | -      | -                                 | -      | 110                               | 0,031  | 100                               | 0,025  | -                                 | -      | -                                   | -      |

**Tabla 24. Frecuencias de los valores del tono muscular, observados en los distintos grupos experimentales en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica**

| TIEMPO (MIN) | VALORACIÓN | GRUPOS EXPERIMENTALES |     |       |       |
|--------------|------------|-----------------------|-----|-------|-------|
|              |            | AMf                   | AVf | DMAMf | DMAVf |
| 2            | 0          | 5                     | 1   | 4     |       |
|              | 1          |                       | 2   |       |       |
|              | 2          |                       | 2   | 1     |       |
|              | 3          |                       |     |       | 5     |
| 5            | 0          | 4                     | 1   | 1     |       |
|              | 1          | 1                     | 2   | 3     |       |
|              | 2          |                       | 2   |       |       |
|              | 3          |                       |     | 1     | 5     |
| 10           | 0          | 2                     | 2   |       |       |
|              | 1          | 3                     | 1   |       |       |
|              | 2          |                       | 2   | 1     |       |
|              | 3          |                       |     | 4     | 5     |
| 15           | 0          | 1                     | 2   |       |       |
|              | 1          | 4                     | 2   |       |       |
|              | 2          |                       | 1   |       | 2     |
|              | 3          |                       |     | 5     | 3     |
| 30           | 0          | 1                     | 2   |       |       |
|              | 1          | 4                     | 3   |       |       |
|              | 2          |                       |     |       | 2     |
|              | 3          |                       |     | 5     | 3     |
| 45           | 0          | 1                     | 4   |       |       |
|              | 1          | 4                     | 1   |       | 1     |
|              | 2          |                       |     |       | 2     |
|              | 3          |                       |     | 5     | 2     |
| 60           | 0          | 2                     | 4   |       |       |
|              | 1          | 3                     | 1   |       | 1     |
|              | 2          |                       |     | 3     | 2     |
|              | 3          |                       |     | 2     | 2     |
| 120          | 0          | 5                     | 5   |       |       |
|              | 1          |                       |     | 2     | 3     |
|              | 2          |                       |     | 3     | 2     |
|              | 3          |                       |     |       |       |
| 240          | 0          | 5                     | 5   | 4     | 5     |
|              | 1          |                       |     | 1     |       |
|              | 2          |                       |     |       |       |
|              | 3          |                       |     |       |       |
| 360          | 0          | 5                     | 5   | 5     | 5     |
|              | 1          |                       |     |       |       |
|              | 2          |                       |     |       |       |
|              | 3          |                       |     |       |       |
| 480          | 0          | 5                     | 5   | 5     | 5     |
|              | 1          |                       |     |       |       |
|              | 2          |                       |     |       |       |
|              | 3          |                       |     |       |       |

Escala de valoración: (0) Normal; (1) Ligeramente débil, no puede abrirse la boca o se hace con dificultad; (2) Débil, se puede abrir la boca sin dificultad; (3) Muy débil, la lengua puede sacarse y no es capaz de retraerla.

**Tabla 25. Diferencias estadísticamente significativas del tono muscular en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica, entre los grupos objeto del estudio**

| <u>AMf</u><br>Vs.<br><u>AVf</u> |        | <u>AMf</u><br>Vs.<br><u>DMAMf</u> |        | <u>AMf</u><br>Vs.<br><u>DMAVf</u> |        | <u>AVf</u><br>Vs.<br><u>DMAMf</u> |        | <u>AVf</u><br>Vs.<br><u>DMAVf</u> |        | <u>DMAMf</u><br>Vs.<br><u>DMAVf</u> |        |
|---------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-------------------------------------|--------|
| TIEMPO                          | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                              | P≤0,05 |
| -                               | -      | 10                                | 0,009  | 2                                 | 0,005  | 10                                | 0,018  | 2                                 | 0,010  | 2                                   | 0,004  |
| -                               | -      | 15                                | 0,004  | 5                                 | 0,006  | 15                                | 0,005  | 5                                 | 0,005  | 5                                   | 0,017  |
| -                               | -      | 20                                | 0,004  | 10                                | 0,006  | 20                                | 0,005  | 10                                | 0,007  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 25                                | 0,006  | 15                                | 0,006  | 25                                | 0,007  | 15                                | 0,013  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 30                                | 0,004  | 20                                | 0,006  | 30                                | 0,007  | 20                                | 0,013  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 35                                | 0,005  | 25                                | 0,011  | 35                                | 0,010  | 25                                | 0,012  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 40                                | 0,005  | 30                                | 0,006  | 40                                | 0,006  | 30                                | 0,012  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 45                                | 0,009  | 35                                | 0,028  | 45                                | 0,005  | 35                                | 0,042  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 50                                | 0,006  | 40                                | 0,018  | 50                                | 0,005  | 40                                | 0,013  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 60                                | 0,007  | 45                                | 0,028  | 60                                | 0,011  | 45                                | 0,009  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 70                                | 0,007  | 50                                | 0,017  | 70                                | 0,011  | 50                                | 0,009  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 80                                | 0,010  | 60                                | 0,017  | 80                                | 0,009  | 60                                | 0,016  | -                                   | -      |
| -                               | -      | -                                 | -      | 70                                | 0,013  | 90                                | 0,031  | 70                                | 0,016  | -                                   | -      |
| -                               | -      | -                                 | -      | 80                                | 0,022  | -                                 | -      | 80                                | 0,016  | -                                   | -      |
| -                               | -      | -                                 | -      | 90                                | 0,021  | -                                 | -      | 90                                | 0,047  | -                                   | -      |
| -                               | -      | -                                 | -      | 100                               | 0,020  | -                                 | -      | -                                 | -      | -                                   | -      |
| -                               | -      | -                                 | -      | 110                               | 0,040  | -                                 | -      | -                                 | -      | -                                   | -      |

**Tabla 26. Frecuencias de los valores de la respuesta al ruido, observados en los distintos grupos experimentales en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica**

| TIEMPO (MIN) | VALORACIÓN | GRUPOS EXPERIMENTALES |     |       |       |
|--------------|------------|-----------------------|-----|-------|-------|
|              |            | AMf                   | AVf | DMAMf | DMAVf |
| 2            | 0          | 5                     |     | 4     |       |
|              | 1          |                       | 1   |       | 1     |
|              | 2          |                       | 1   | 1     |       |
|              | 3          |                       | 3   |       | 4     |
| 5            | 0          | 3                     |     |       |       |
|              | 1          | 2                     |     | 2     |       |
|              | 2          |                       | 3   | 1     | 1     |
|              | 3          |                       | 2   | 2     | 4     |
| 10           | 0          | 1                     | 1   |       |       |
|              | 1          | 3                     | 3   |       |       |
|              | 2          | 1                     |     |       |       |
|              | 3          |                       | 1   | 3     | 5     |
| 15           | 0          | 1                     | 1   |       |       |
|              | 1          | 2                     | 3   |       |       |
|              | 2          | 2                     |     |       |       |
|              | 3          |                       | 1   | 5     | 5     |
| 30           | 0          |                       | 1   |       |       |
|              | 1          | 2                     | 4   |       |       |
|              | 2          | 3                     |     |       |       |
|              | 3          |                       |     | 5     | 5     |
| 45           | 0          |                       | 3   |       |       |
|              | 1          | 5                     | 2   |       |       |
|              | 2          |                       |     |       |       |
|              | 3          |                       |     | 5     | 5     |
| 60           | 0          | 1                     | 5   |       |       |
|              | 1          | 4                     |     |       |       |
|              | 2          |                       |     |       |       |
|              | 3          |                       |     | 5     | 5     |
| 120          | 0          | 5                     | 5   |       |       |
|              | 1          |                       |     |       |       |
|              | 2          |                       |     | 3     | 1     |
|              | 3          |                       |     | 2     | 4     |
| 240          | 0          | 5                     | 5   | 4     | 3     |
|              | 1          |                       |     |       | 2     |
|              | 2          |                       |     | 1     |       |
|              | 3          |                       |     |       |       |
| 360          | 0          | 5                     | 5   | 5     | 5     |
|              | 1          |                       |     |       |       |
|              | 2          |                       |     |       |       |
|              | 3          |                       |     |       |       |
| 480          | 0          | 5                     | 5   | 5     | 5     |
|              | 1          |                       |     |       |       |
|              | 2          |                       |     |       |       |
|              | 3          |                       |     |       |       |

*Escala de valoración: (0) Sensible o normal; (1) Ligera; (2) Muy débil; (3) No reacciona*

**Tabla 27. Diferencias estadísticamente significativas de la respuesta al ruido en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica, entre los grupos objeto del estudio**

| <u>AMf</u><br>Vs.<br><u>AVf</u> |        | <u>AMf</u><br>Vs.<br><u>DMAMf</u> |        | <u>AMf</u><br>Vs.<br><u>DMAVf</u> |        | <u>AVf</u><br>Vs.<br><u>DMAMf</u> |        | <u>AVf</u><br>Vs.<br><u>DMAVf</u> |        | <u>DMAMf</u><br>VS.<br><u>DMAVf</u> |        |
|---------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-------------------------------------|--------|
| TIEMPO                          | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                              | P≤0,05 |
| 2                               | 0,014  | 5                                 | 0,039  | 2                                 | 0,007  | 2                                 | 0,014  | 10                                | 0,028  | 2                                   | 0,017  |
| 5                               | 0,012  | 10                                | 0,005  | 5                                 | 0,010  | 10                                | 0,028  | 15                                | 0,017  | -                                   | -      |
| 25                              | 0,040  | 15                                | 0,005  | 10                                | 0,005  | 15                                | 0,017  | 20                                | 0,005  | -                                   | -      |
| 50                              | 0,014  | 20                                | 0,005  | 15                                | 0,005  | 20                                | 0,005  | 25                                | 0,006  | -                                   | -      |
| 60                              | 0,024  | 25                                | 0,006  | 20                                | 0,005  | 25                                | 0,006  | 30                                | 0,006  | -                                   | -      |
| 70                              | 0,024  | 30                                | 0,005  | 25                                | 0,006  | 30                                | 0,006  | 35                                | 0,008  | -                                   | -      |
| 80                              | 0,040  | 35                                | 0,007  | 30                                | 0,006  | 35                                | 0,008  | 40                                | 0,005  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 40                                | 0,003  | 35                                | 0,009  | 40                                | 0,005  | 45                                | 0,005  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 45                                | 0,005  | 40                                | 0,003  | 45                                | 0,005  | 50                                | 0,004  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 50                                | 0,003  | 45                                | 0,005  | 50                                | 0,004  | 60                                | 0,005  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 60                                | 0,004  | 50                                | 0,003  | 60                                | 0,005  | 70                                | 0,007  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 70                                | 0,004  | 60                                | 0,004  | 70                                | 0,005  | 80                                | 0,007  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 80                                | 0,006  | 70                                | 0,005  | 80                                | 0,005  | 90                                | 0,031  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 90                                | 0,005  | 80                                | 0,009  | 90                                | 0,014  | -                                 | -      | -                                   | -      |
| -                               | -      | 100                               | 0,009  | 90                                | 0,006  | -                                 | -      | -                                 | -      | -                                   | -      |
| -                               | -      | 110                               | 0,040  | 100                               | 0,013  | -                                 | -      | -                                 | -      | -                                   | -      |
| -                               | -      | -                                 | -      | 110                               | 0,031  | -                                 | -      | -                                 | -      | -                                   | -      |

**Tabla 28. Frecuencias de los valores de la analgesia digital, observados en los distintos grupos experimentales en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica**

| TIEMPO (MIN) | VALORACIÓN | GRUPOS EXPERIMENTALES |     |       |       |
|--------------|------------|-----------------------|-----|-------|-------|
|              |            | AMf                   | AVf | DMAMf | DMAVf |
| 2            | 0          | 5                     |     | 3     |       |
|              | 1          |                       | 4   | 2     | 3     |
|              | 2          |                       | 1   |       | 2     |
|              | 3          |                       |     |       |       |
|              | 4          |                       |     |       |       |
| 5            | 0          | 3                     |     | 1     |       |
|              | 1          | 2                     | 4   | 2     | 3     |
|              | 2          |                       | 1   | 2     | 2     |
|              | 3          |                       |     |       |       |
|              | 4          |                       |     |       |       |
| 10           | 0          | 1                     |     |       |       |
|              | 1          | 4                     | 5   |       | 1     |
|              | 2          |                       |     | 4     | 2     |
|              | 3          |                       |     |       | 2     |
|              | 4          |                       |     | 1     |       |
| 15           | 0          | 1                     |     |       |       |
|              | 1          | 4                     | 5   |       | 1     |
|              | 2          |                       |     | 3     | 1     |
|              | 3          |                       |     | 2     | 2     |
|              | 4          |                       |     |       | 1     |
| 30           | 0          |                       |     |       |       |
|              | 1          | 5                     | 5   |       | 1     |
|              | 2          |                       |     | 3     | 1     |
|              | 3          |                       |     | 1     | 1     |
|              | 4          |                       |     | 1     | 2     |
| 45           | 0          |                       | 2   |       |       |
|              | 1          | 5                     | 3   |       | 4     |
|              | 2          |                       |     | 3     |       |
|              | 3          |                       |     | 2     |       |
|              | 4          |                       |     |       | 1     |
| 60           | 0          | 3                     | 3   |       |       |
|              | 1          | 2                     | 2   | 2     | 3     |
|              | 2          |                       |     | 2     | 1     |
|              | 3          |                       |     | 1     | 1     |
|              | 4          |                       |     |       |       |
| 120          | 0          | 5                     | 5   |       |       |

|     |   |   |   |   |   |
|-----|---|---|---|---|---|
|     | 1 |   |   | 5 | 5 |
|     | 2 |   |   |   |   |
|     | 3 |   |   |   |   |
|     | 4 |   |   |   |   |
| 240 | 0 | 5 | 5 | 4 | 3 |
|     | 1 |   |   | 1 | 2 |
|     | 2 |   |   |   |   |
|     | 3 |   |   |   |   |
| 360 | 4 |   |   |   |   |
|     | 0 | 5 | 5 | 5 | 5 |
|     | 1 |   |   |   |   |
|     | 2 |   |   |   |   |
| 480 | 3 |   |   |   |   |
|     | 4 |   |   |   |   |
|     | 0 | 5 | 5 | 5 | 5 |
|     | 1 |   |   |   |   |
|     | 2 |   |   |   |   |
|     | 3 |   |   |   |   |
|     | 4 |   |   |   |   |
|     |   |   |   |   |   |

Escala de valoración: (0) Normal; (1) Responde a la presión ligera; (2) Responde a la presión moderada con respuesta lenta; (3) Responde a la presión cuando se cierra la pinza en el 1° diente; (4) No reacciona.

**Tabla 29. Diferencias estadísticamente significativas de la analgesia digital en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica, entre los grupos objeto del estudio**

| <u>AMf</u><br>Vs.<br><u>AVf</u> |        | <u>AMf</u><br>Vs.<br><u>DMAMf</u> |        | <u>AMf</u><br>Vs.<br><u>DMAVf</u> |        | <u>AVf</u><br>Vs.<br><u>DMAMf</u> |        | <u>AVf</u><br>Vs.<br><u>DMAVf</u> |        | <u>DMAMf</u><br>Vs.<br><u>DMAVf</u> |        |
|---------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-------------------------------------|--------|
| TIEMPO                          | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                              | P≤0,05 |
| 2                               | 0,018  | 10                                | 0,005  | 2                                 | 0,009  | 10                                | 0,007  | 10                                | 0,030  | 2                                   | 0,031  |
| -                               | -      | 15                                | 0,006  | 10                                | 0,018  | 15                                | 0,005  | 15                                | 0,018  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 20                                | 0,004  | 15                                | 0,019  | 20                                | 0,004  | 20                                | 0,018  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 25                                | 0,028  | 20                                | 0,018  | 25                                | 0,028  | 25                                | 0,031  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 30                                | 0,005  | 25                                | 0,031  | 30                                | 0,009  | 30                                | 0,031  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 40                                | 0,004  | 30                                | 0,018  | 35                                | 0,014  | 70                                | 0,027  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 45                                | 0,009  | 60                                | 0,032  | 40                                | 0,007  | 80                                | 0,007  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 50                                | 0,005  | 70                                | 0,032  | 45                                | 0,007  | 90                                | 0,031  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 60                                | 0,021  | 80                                | 0,028  | 50                                | 0,007  | -                                 | -      | -                                   | -      |
| -                               | -      | 70                                | 0,031  | 90                                | 0,042  | 60                                | 0,039  | -                                 | -      | -                                   | -      |
| -                               | -      | 80                                | 0,026  | 100                               | 0,007  | 70                                | 0,026  | -                                 | -      | -                                   | -      |
| -                               | -      | 90                                | 0,042  | 110                               | 0,031  | 80                                | 0,009  | -                                 | -      | -                                   | -      |
| -                               | -      | 100                               | 0,007  | -                                 | -      | 90                                | 0,031  | -                                 | -      | -                                   | -      |
| -                               | -      | 110                               | 0,014  | -                                 | -      | -                                 | -      | -                                 | -      | -                                   | -      |

**Tabla 30. Frecuencias de los valores de la analgesia auricular, observados en los distintos grupos experimentales en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica**

| TIEMPO (MIN) | VALORACIÓN | GRUPOS EXPERIMENTALES |     |       |       |
|--------------|------------|-----------------------|-----|-------|-------|
|              |            | AMf                   | AVf | DMAMf | DMAVf |
| 2            | 0          | 5                     |     | 3     |       |
|              | 1          |                       | 4   | 2     | 3     |
|              | 2          |                       | 1   |       | 2     |
|              | 3          |                       |     |       |       |
|              | 4          |                       |     |       |       |
| 5            | 0          | 3                     |     | 1     |       |
|              | 1          | 2                     | 4   | 2     | 3     |
|              | 2          |                       | 1   | 2     | 2     |
|              | 3          |                       |     |       |       |
|              | 4          |                       |     |       |       |
| 10           | 0          | 1                     |     |       |       |
|              | 1          | 4                     | 5   |       | 1     |
|              | 2          |                       |     | 4     | 3     |
|              | 3          |                       |     |       | 1     |
|              | 4          |                       |     | 1     |       |
| 15           | 0          | 1                     |     |       |       |
|              | 1          | 4                     | 5   |       | 1     |
|              | 2          |                       |     | 2     | 2     |
|              | 3          |                       |     | 2     | 1     |
|              | 4          |                       |     | 1     | 1     |
| 30           | 0          |                       |     |       |       |
|              | 1          | 5                     | 5   |       | 2     |
|              | 2          |                       |     | 3     | 1     |
|              | 3          |                       |     | 1     |       |
|              | 4          |                       |     | 1     | 2     |
| 45           | 0          |                       | 2   |       |       |
|              | 1          | 5                     | 3   |       | 2     |
|              | 2          |                       |     | 3     | 1     |
|              | 3          |                       |     | 1     | 1     |
|              | 4          |                       |     | 1     | 1     |
| 60           | 0          | 3                     | 3   |       |       |
|              | 1          | 2                     | 2   | 1     | 2     |
|              | 2          |                       |     | 2     | 1     |
|              | 3          |                       |     | 2     | 2     |
|              | 4          |                       |     |       |       |
| 120          | 0          | 5                     | 5   |       |       |
|              | 1          |                       |     | 4     | 5     |
|              | 2          |                       |     | 1     |       |
|              | 3          |                       |     |       |       |
|              | 4          |                       |     |       |       |
| 240          | 0          | 5                     | 5   | 4     | 3     |
|              | 1          |                       |     | 1     | 2     |

|     |   |   |   |   |   |
|-----|---|---|---|---|---|
|     | 2 |   |   |   |   |
|     | 3 |   |   |   |   |
|     | 4 |   |   |   |   |
| 360 | 0 | 5 | 5 | 5 | 5 |
|     | 1 |   |   |   |   |
|     | 2 |   |   |   |   |
|     | 3 |   |   |   |   |
| 480 | 0 | 5 | 5 | 5 | 5 |
|     | 1 |   |   |   |   |
|     | 2 |   |   |   |   |
|     | 3 |   |   |   |   |

Escala de valoración: (0) Normal; (1) Responde a la presión ligera; (2) Responde a la presión moderada con respuesta lenta; (3) Responde a la presión cuando se cierra la pinza en el 1° diente; (4) No reacciona.

**Tabla 31. Diferencias estadísticamente significativas de la analgesia auricular en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica, entre los grupos objeto del estudio**

| <u>AMf</u><br>Vs.<br><u>AVf</u> |        | <u>AMf</u><br>Vs.<br><u>DMAMf</u> |        | <u>AMf</u><br>Vs.<br><u>DMAVf</u> |        | <u>AVf</u><br>Vs.<br><u>DMAMf</u> |        | <u>AVf</u><br>Vs.<br><u>DMAVf</u> |        | <u>DMAMf</u><br>VS.<br><u>DMAVf</u> |        |
|---------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-------------------------------------|--------|
| TIEMPO                          | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                              | P≤0,05 |
| 2                               | 0,018  | 10                                | 0,005  | 2                                 | 0,009  | 10                                | 0,007  | 10                                | 0,028  | 2                                   | 0,031  |
| -                               | -      | 15                                | 0,007  | 10                                | 0,018  | 15                                | 0,005  | 15                                | 0,018  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 20                                | 0,005  | 15                                | 0,19   | 20                                | 0,005  | 45                                | 0,034  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 25                                | 0,010  | 60                                | 0,021  | 25                                | 0,010  | 50                                | 0,034  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 30                                | 0,005  | 70                                | 0,031  | 30                                | 0,009  | 60                                | 0,039  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 35                                | 0,009  | 80                                | 0,026  | 35                                | 0,018  | 70                                | 0,026  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 40                                | 0,005  | 90                                | 0,042  | 40                                | 0,005  | 80                                | 0,009  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 45                                | 0,009  | 100                               | 0,007  | 45                                | 0,007  | 90                                | 0,031  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 50                                | 0,005  | 110                               | 0,007  | 50                                | 0,007  | -                                 | -      | -                                   | -      |
| -                               | -      | 60                                | 0,013  | -                                 | -      | 60                                | 0,023  | -                                 | -      | -                                   | -      |
| -                               | -      | 70                                | 0,011  | -                                 | -      | 70                                | 0,013  | -                                 | -      | -                                   | -      |
| -                               | -      | 80                                | 0,013  | -                                 | -      | 80                                | 0,007  | -                                 | -      | -                                   | -      |
| -                               | -      | 90                                | 0,020  | -                                 | -      | 90                                | 0,040  | -                                 | -      | -                                   | -      |
| -                               | -      | 100                               | 0,009  | -                                 | -      | -                                 | -      | -                                 | -      | -                                   | -      |
| -                               | -      | 110                               | 0,031  | -                                 | -      | -                                 | -      | -                                 | -      | -                                   | -      |

**Tabla 32. Diferencias estadísticamente significativas del grado de sedación total en la experiencia farmacocinética/farmacodinámica, entre los grupos objeto del estudio**

| <u>AMf</u><br>Vs.<br><u>AVf</u> |        | <u>AMf</u><br>Vs.<br><u>DMAMf</u> |        | <u>AMf</u><br>Vs.<br><u>DMAVf</u> |        | <u>AVf</u><br>Vs.<br><u>DMAMf</u> |        | <u>AVf</u><br>Vs.<br><u>DMAVf</u> |        | <u>DMAMf</u><br>VS.<br><u>DMAVf</u> |        |
|---------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-------------------------------------|--------|
| TIEMPO                          | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                            | P≤0,05 | TIEMPO                              | P≤0,05 |
| 2                               | 0,005  | 2                                 | 0,004  | 2                                 | 0,005  | 2                                 | 0,013  | 45                                | 0,046  | 2                                   | 0,007  |
| 5                               | 0,006  | 5                                 | 0,006  | 5                                 | 0,007  | 45                                | 0,036  | 50                                | 0,025  | -                                   | -      |
| 90                              | 0,038  | 60                                | 0,047  | 60                                | 0,047  | 50                                | 0,009  | 60                                | 0,009  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 70                                | 0,026  | 70                                | 0,034  | 60                                | 0,009  | 70                                | 0,008  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 80                                | 0,012  | 80                                | 0,021  | 70                                | 0,008  | 80                                | 0,008  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 90                                | 0,015  | 90                                | 0,026  | 80                                | 0,008  | 90                                | 0,007  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 100                               | 0,009  | 100                               | 0,008  | 90                                | 0,007  | 100                               | 0,005  | -                                   | -      |
| -                               | -      | 110                               | 0,005  | 110                               | 0,005  | 100                               | 0,005  | -                                 | -      | -                                   | -      |

### 4.3.2 Estudio clínico/anestésico

Tabla 33. Frecuencias de los valores de postura espontánea, observados en los distintos grupos experimentales en la experiencia clínico/anestésica

| TIEMPO (MIN) | VALORACIÓN | GRUPOS EXPERIMENTALES |       |
|--------------|------------|-----------------------|-------|
|              |            | DMAMa                 | DMAVa |
| 5            | 0          |                       |       |
|              | 1          |                       |       |
|              | 2          | 1                     |       |
|              | 3          |                       |       |
|              | 4          |                       |       |
|              | 5          | 4                     | 5     |
| 10           | 0          |                       |       |
|              | 1          |                       |       |
|              | 2          |                       |       |
|              | 3          |                       |       |
|              | 4          | 1                     |       |
|              | 5          | 4                     | 5     |
| 20           | 0          |                       |       |
|              | 1          |                       |       |
|              | 2          |                       |       |
|              | 3          |                       |       |
|              | 4          |                       |       |
|              | 5          | 5                     | 5     |
| 30           | 0          |                       |       |
|              | 1          |                       |       |
|              | 2          |                       |       |
|              | 3          |                       |       |
|              | 4          |                       |       |
|              | 5          | 5                     | 5     |
| 40           | 0          |                       |       |
|              | 1          |                       |       |
|              | 2          |                       |       |
|              | 3          |                       |       |
|              | 4          |                       |       |
|              | 5          | 5                     | 5     |
| 50           | 0          |                       |       |
|              | 1          |                       |       |
|              | 2          |                       |       |
|              | 3          |                       |       |
|              | 4          |                       |       |
|              | 5          | 5                     | 5     |
| 60           | 0          |                       |       |
|              | 1          |                       |       |
|              | 2          |                       |       |
|              | 3          |                       |       |
|              | 4          |                       |       |
|              | 5          | 5                     | 5     |
| 70           | 0          |                       |       |
|              | 1          |                       |       |
|              | 2          |                       |       |
|              | 3          |                       |       |
|              | 4          |                       |       |
|              | 5          | 5                     | 5     |
| 80           | 0          |                       |       |
|              | 1          |                       |       |
|              | 2          |                       |       |

|    |   |   |   |
|----|---|---|---|
|    | 3 |   |   |
|    | 4 |   | 1 |
|    | 5 | 5 | 4 |
| 90 | 0 |   |   |
|    | 1 |   |   |
|    | 2 |   |   |
|    | 3 |   |   |
|    | 4 |   | 1 |
|    | 5 | 5 | 4 |

Escala de valoración: (0) Postura normal; (1) Signos suaves de sedación pero en pie; (2) Acostado en decúbito esternal con cabeza arriba; (3) Acostado en decúbito esternal con cabeza abajo; (4) Decúbito lateral espontáneo o forzado pero puede intentar incorporarse; (5) Decúbito lateral espontáneo o forzado pero es incapaz de levantarse.

**Tabla 34. Frecuencias de los valores del tono muscular, observados en los distintos grupos experimentales en la experiencia clínico/anestésica**

| TIEMPO (MIN) | VALORACIÓN | GRUPOS EXPERIMENTALES |       |
|--------------|------------|-----------------------|-------|
|              |            | DMAMa                 | DMAVa |
| 5            | 0          | 1                     |       |
|              | 1          |                       | 4     |
|              | 2          | 2                     | 1     |
|              | 3          | 2                     |       |
| 10           | 0          | 1                     |       |
|              | 1          |                       | 4     |
|              | 2          | 1                     |       |
|              | 3          | 3                     | 1     |
| 20           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 1                     | 3     |
|              | 2          |                       | 1     |
|              | 3          | 4                     | 1     |
| 30           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 1                     | 3     |
|              | 2          |                       | 1     |
|              | 3          | 4                     | 1     |
| 40           | 0          |                       | 1     |
|              | 1          | 1                     | 2     |
|              | 2          |                       | 1     |
|              | 3          | 4                     | 1     |
| 50           | 0          |                       | 1     |
|              | 1          | 1                     | 2     |
|              | 2          |                       | 1     |
|              | 3          | 4                     | 1     |
| 60           | 0          |                       | 1     |
|              | 1          | 1                     | 2     |
|              | 2          | 1                     | 1     |
|              | 3          | 3                     | 1     |
| 70           | 0          |                       | 1     |
|              | 1          | 2                     | 2     |
|              | 2          |                       | 1     |
|              | 3          | 3                     | 1     |
| 80           | 0          |                       | 1     |
|              | 1          | 2                     | 2     |
|              | 2          |                       |       |
|              | 3          | 3                     | 2     |

|    |   |   |   |
|----|---|---|---|
| 90 | 0 |   | 1 |
|    | 1 | 2 | 2 |
|    | 2 |   | 1 |
|    | 3 | 3 | 1 |

Escala de valoración: (0) Normal; (1) Ligeramente débil, no puede abrirse la boca o se hace con dificultad; (2) Débil, se puede abrir la boca sin dificultad; (3) Muy débil, la lengua puede sacarse y no es capaz de retraerla

**Tabla 35. Frecuencias de los valores de la respuesta al ruido, observados en los distintos grupos experimentales en la experiencia clínico/anestésica**

| TIEMPO (MIN) | VALORACIÓN | GRUPOS EXPERIMENTALES |       |
|--------------|------------|-----------------------|-------|
|              |            | DMAMa                 | DMAVa |
| 5            | 0          |                       |       |
|              | 1          | 1                     |       |
|              | 2          | 2                     | 3     |
|              | 3          | 2                     | 2     |
| 10           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 1                     | 1     |
|              | 2          | 1                     | 3     |
|              | 3          | 3                     | 1     |
| 20           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 1                     |       |
|              | 2          |                       | 3     |
|              | 3          | 4                     | 2     |
| 30           | 0          |                       |       |
|              | 1          |                       |       |
|              | 2          |                       | 3     |
|              | 3          | 5                     | 2     |
| 40           | 0          |                       |       |
|              | 1          |                       |       |
|              | 2          | 1                     | 1     |
|              | 3          | 4                     | 4     |
| 50           | 0          |                       |       |
|              | 1          |                       |       |
|              | 2          |                       | 1     |
|              | 3          | 5                     | 4     |
| 60           | 0          |                       |       |
|              | 1          |                       |       |
|              | 2          |                       | 1     |
|              | 3          | 5                     | 4     |
| 70           | 0          |                       |       |
|              | 1          |                       |       |
|              | 2          | 1                     | 1     |
|              | 3          | 4                     | 4     |
| 80           | 0          |                       |       |
|              | 1          |                       |       |
|              | 2          |                       | 1     |
|              | 3          | 5                     | 4     |
| 90           | 0          |                       |       |
|              | 1          |                       |       |
|              | 2          |                       | 1     |
|              | 3          | 5                     | 4     |

Escala de valoración: (0) Sensible o normal; (1) Ligera; (2) Muy débil; (3) No reacciona

**Tabla 36. Frecuencias de los valores de la analgesia digital observados en los distintos grupos experimentales en la experiencia clínico/anestésica**

| TIEMPO (MIN) | VALORACIÓN | GRUPOS EXPERIMENTALES |       |
|--------------|------------|-----------------------|-------|
|              |            | DMAMa                 | DMAVa |
| 5            | 0          | 1                     |       |
|              | 1          | 2                     | 4     |
|              | 2          | 1                     |       |
|              | 3          | 1                     |       |
|              | 4          |                       | 1     |
| 10           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 4                     | 4     |
|              | 2          |                       |       |
|              | 3          |                       |       |
|              | 4          | 1                     | 1     |
| 20           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 3                     | 3     |
|              | 2          | 1                     |       |
|              | 3          |                       | 2     |
|              | 4          | 1                     |       |
| 30           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 1                     | 3     |
|              | 2          | 2                     |       |
|              | 3          | 1                     | 2     |
|              | 4          | 1                     |       |
| 40           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 1                     | 3     |
|              | 2          | 2                     | 2     |
|              | 3          |                       |       |
|              | 4          | 2                     |       |
| 50           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 2                     | 4     |
|              | 2          | 1                     | 1     |
|              | 3          |                       |       |
|              | 4          | 2                     |       |
| 60           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 2                     | 3     |
|              | 2          | 1                     | 2     |
|              | 3          | 1                     |       |
|              | 4          | 1                     |       |
| 70           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 2                     | 3     |
|              | 2          | 1                     | 2     |
|              | 3          |                       |       |
|              | 4          | 2                     |       |
| 80           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 2                     | 4     |
|              | 2          | 1                     | 1     |
|              | 3          |                       |       |
|              | 4          | 2                     |       |
| 90           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 2                     | 4     |
|              | 2          | 1                     | 1     |
|              | 3          |                       |       |
|              | 4          | 2                     |       |

Escala de valoración: (0) Normal; (1) Responde a la presión ligera; (2) Responde a la presión moderada con respuesta lenta; (3) Responde a la presión cuando se cierra la pinza en el 1º diente; (4) No reacciona.

**Tabla 37. Frecuencias de los valores de la analgesia auricular, observados en los distintos grupos experimentales en la experiencia clínico/anestésica**

| TIEMPO (MIN) | VALORACIÓN | GRUPOS EXPERIMENTALES |       |
|--------------|------------|-----------------------|-------|
|              |            | DMAMa                 | DMAVa |
| 5            | 0          | 1                     |       |
|              | 1          | 1                     | 4     |
|              | 2          |                       | 1     |
|              | 3          |                       |       |
|              | 4          | 3                     |       |
| 10           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 2                     | 3     |
|              | 2          |                       | 1     |
|              | 3          |                       |       |
|              | 4          | 3                     | 1     |
| 20           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 1                     | 3     |
|              | 2          |                       |       |
|              | 3          | 1                     |       |
|              | 4          | 3                     | 2     |
| 30           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 1                     | 3     |
|              | 2          |                       |       |
|              | 3          |                       |       |
|              | 4          | 4                     | 2     |
| 40           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 1                     | 2     |
|              | 2          |                       | 1     |
|              | 3          | 1                     |       |
|              | 4          | 3                     | 2     |
| 50           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 1                     | 3     |
|              | 2          |                       |       |
|              | 3          |                       |       |
|              | 4          | 4                     | 2     |
| 60           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 1                     | 3     |
|              | 2          |                       |       |
|              | 3          |                       |       |
|              | 4          | 4                     | 2     |
| 70           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 1                     | 2     |
|              | 2          |                       | 2     |
|              | 3          |                       |       |
|              | 4          | 4                     | 1     |
| 80           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 1                     | 2     |
|              | 2          |                       |       |
|              | 3          | 2                     | 1     |
|              | 4          | 2                     | 2     |
| 90           | 0          |                       |       |
|              | 1          | 1                     | 2     |
|              | 2          | 1                     |       |
|              | 3          | 1                     |       |
|              | 4          | 2                     | 3     |

*Escala de valoración: (0) Normal; (1) Responde a la presión ligera; (2) Responde a la presión moderada con respuesta lenta; (3) Responde a la presión cuando se cierra la pinza en el 1º diente; (4) No reacciona*



## 5 DISCUSIÓN



## 5.1 ASPECTOS FARMACOCINÉTICOS Y FARMACODINÁMICOS

### 5.1.1 Administración Intravenosa de Alfaxalona

Las características farmacocinéticas de la alfaxalona tras la administración intravenosa han sido estudiadas en distintas especies animales como rata (Visser et al, 2002; Lau et al., 2013), perro (Ferre et al, 2006; Pasloske et al., 2009), gato (Whittem et al., 2008) y caballo (Goodwin et al. 2011, 2012), pero hasta el momento no se han descrito en el conejo.

Whittem et al. (2008) investigaron la farmacocinética de alfaxalona a dosis clínicas (5 mg/kg) y supraclínicas (25 mg/kg) y encontraron que su comportamiento cinético es de tipo no-lineal y dosis dependiente. Cuando los parámetros farmacocinéticos de un fármaco, como por ejemplo aclaramiento y volumen de distribución son dosis-independientes, se dice que son lineales. En los fármacos con farmacocinética lineal, conforme la dosis se incrementa, las concentraciones plasmáticas y el área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (AUC) se incrementan en proporción al cambio en la dosis. La farmacocinética lineal se mantiene comúnmente, cuando los mecanismos de aclaramiento del fármaco no se aproximan a un máximo (no se saturan), a las concentraciones alcanzadas *in vivo*. Sin embargo, los mecanismos de aclaramiento pueden saturarse para algunos fármacos, o los efectos farmacodinámicos del fármaco pueden alterar su propia distribución o aclaramiento. Para dichos fármacos los parámetros farmacocinéticos como aclaramiento y volumen de distribución pueden variar dependiendo de la dosis administrada o en función del tiempo.

La farmacocinética no lineal por tanto, sucede cuando la absorción, distribución, metabolismo o eliminación (LADME) de un fármaco no obedece a procesos de primer orden. La interpretación clínica de no-linealidad, consiste en que los efectos y la persistencia del fármaco en el organismo no será predecible en el individuo a dosis diferentes, y la variabilidad entre individuos puede ser mayor que la esperada con fármacos con comportamiento farmacocinético lineal. Por lo tanto, en caso de

aplicación de dosis excesivas en relación a la dosis clínica recomendada en una especie dada, será imprescindible contar con estudios farmacocinéticos para caracterizar adecuadamente su comportamiento puesto que pueden darse variaciones muy significativas.

Tras la administración intravenosa de alfaxalona se ha descrito un pico secundario de concentración plasmática y/o una fase de meseta correspondiente a un efecto rebote alrededor de los 60-120 minutos de la inducción anestésica; no ocurre sistemáticamente en todos los individuos englobados en los estudios, pero sí en la mayoría de ellos. Este efecto ha sido observado con alfaxalona en perros, gatos, caballos adultos y potros (Ferre et al., 2006; Whittem et al., 2008, Goodwin et al., 2011, 2012), y con otros anestésicos en distintas especies (Kay et al., 1986; Zoran et al., 1993; Hudson et al., 1994; Bettschart-Wolfensberger et al., 1996). En el presente estudio en conejos, no se llegó a observar un segundo pico, pero si cierta fase de “plateau” alrededor de los 60 minutos en 3 de los cinco individuos. La causa de este fenómeno de rebote es incierta, planteándose varias hipótesis. Nicholas et al. (1981) propuso que una porción de la dosis es secuestrada en pulmón y posteriormente liberada a las venas pulmonares. Otros investigadores especulan que la alteración del gasto cardiaco y el flujo regional durante la recuperación, puede resultar en la redistribución del fármaco desde el músculo esquelético (Kay et al., 1986; Bettschart-Wolfensberger et al., 1996). Whittem et al. (2008) y Goodwin et al. (2012) han propuesto que en el caso de la alfaxalona puede ser debido a la formación del metabolito 3 $\beta$ -hidroxialfaxalona, que la técnica analítica no es capaz de diferenciar, ya que posee el mismo peso molecular y tiempo de retención que la alfaxalona, pero esta afirmación es una especulación puesto que debido a las limitaciones de la técnica no es posible cuantificar e identificar dicho pico dentro del cromatograma.

Los parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis no compartimental de las concentraciones plasmáticas de alfaxalona tras la administración intravenosa en el conejo se muestran en las Tablas 4 y 5 del

Anexo. A continuación se van a comentar los parámetros más representativos.

El tiempo de vida media de la fase de disposición lenta ( $t_{1/2\lambda z}$ ), considerado como **tiempo de vida media o semivida** del fármaco (Gibaldi y Perrier, 1982), fue de 1,61 horas (96.6 minutos). El tiempo de vida media del presente estudio, es superior al encontrado en rata de 14.0 y 17.2 minutos por Visser et al. (2002) y Lau et al. (2013), respectivamente. También la semivida en los conejos de este estudio ha resultado superior al valor reportado en perros galgos (31.2-38.0 minutos; Pasloske et al., 2009) y beagle (24.0 minutos; Ferre et al., 2006). Sin embargo, en gatos a los que se administró la misma dosis que en el presente estudio, el valor medio encontrado fue de 45 minutos, dentro de un rango comprendido entre 29.6 y 107.6 minutos (Whittem et al., 2008), que incluiría la semivida obtenida en el conejo y demuestra la gran variabilidad inter e intraespecífica de este parámetro, tras la administración intravenosa de alfaxalona. Este hecho, ha sido puesto de manifiesto de manera recurrente en la literatura científica disponible en fármacos que para su eliminación requieren metabolismo hepático (Perrier y Gibaldi, 1974; Baggot y Short, 1974; Klotz, 2009; Godwin et al., 2011).

El análisis farmacocinético no compartimental permite calcular el denominado momento estadístico 1 o **tiempo medio de residencia (MRT)**. Este parámetro es independiente del modelo farmacocinético elegido, en caso de análisis compartimental, y tiene un significado análogo al tiempo de vida media que se halla en los modelos compartimentales. El MRT, se obtiene directamente de la curva experimental y puede considerarse como una variable estadística aleatoria. El tiempo de vida media por el contrario, es un parámetro obtenido a partir de la pendiente de la curva de concentración plasmática-tiempo.

En el presente estudio se ha obtenido un valor de MRT de 1.57 horas, correspondiente a 94.2 minutos (Tabla 5 del Anexo). Este valor es superior al obtenido en gato (53.2 min, Whittem et al., 2008), perro (29.7

min, Ferre et al., 2006) y potros (43.2 min, Goodwin et al 2012), y coincide con lo expuesto anteriormente para la vida media.

El **volumen de distribución aparente** de alfaxalona, calculado en **función del área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo ( $V_z$ )** en conejo, alcanza un valor de 3.59 L/kg, en tanto que el volumen de distribución en estado estacionario ( $V_{ss}$ ) adquiere un valor de 2.40 L/kg, obtenidos ambos valores por métodos no compartimentales (Tabla 5 del Anexo). Como se puede observar estos valores son altos, e indican que el fármaco tiene una amplia distribución en esta especie. En las referencias disponibles hasta el momento sólo se reportan valores de  $V_z$ . El valor obtenido tras la administración intravenosa de alfaxalona en gato por Whitten et al. (2008), es inferior al referido en el presente estudio (1.8 L/kg), a igualdad de dosis, lo que indicaría una distribución más limitada en este último caso. Incluso, a la dosis de 25 mg/kg en ese mismo estudio, el  $V_z$  es claramente inferior (2.1 L/kg). En rata, Lau et al. (2013) encontraron un valor medio de 1.4 L/kg tras administrar 2 y 5 mg/kg pero con rangos de 0.5-2.8 L/kg y 1.1-1.9 L/kg, respectivamente, lo que indica una gran variabilidad de los datos sobre todo tras la administración de 2 mg/kg.

En perro, los valores del volumen de distribución  $V_z$  varían con la raza; así, en perros galgos se ha encontrado un valor de 1.8-4.8 L/kg (Pasloske et al., 2009) y en perros Beagle de  $2.4 \pm 1.9$  L/kg (Ferre et al., 2006), valores comparables a los del presente estudio en conejo a pesar de que las dosis administradas fueron inferiores (2 mg/kg). En caballos adultos (Goodwin et al., 2011) y en potros (Goodwin et al., 2012), se determinaron valores de 1.6 y 0.6 L/kg, respectivamente, tras la administración de una dosis de 1 mg/kg tras premedicación con acepromazina, xilacina y guaifenesina en el primer caso, y de 3 mg/kg con butorfanol en el segundo. Por lo tanto, la discrepancia en los valores de  $V_z$  obtenidos con alfaxalona entre los estudios comunicados por otros autores y los registrados en la presente investigación, se debe entre otros motivos a la administración de dosis diferentes, ya que éste parámetro es directamente proporcional a la dosis y a la aplicación, en muchos de ellos, de premedicación. Aún así, en

el caso de los potros menores de 2 semanas de edad del estudio de Goodwin et al (2012), es destacable el limitado volumen de distribución obtenido, que puede explicarse debido a la alta liposolubilidad de alfaxalona y a la menor proporción lípidos/agua en el organismo de estos individuos neonatos, al igual que sucede con diazepam (Norman et al., 1977).

El **área bajo la curva de nivel plasmático (AUC)**, es un parámetro que nos permite calcular el aclaramiento plasmático y la biodisponibilidad del fármaco tras su administración extravascular. Este parámetro se calcula integrando, entre tiempo cero e infinito, la curva de concentración plasmática-tiempo y puede ser calculado por análisis compartimental (a partir de la ecuación general del proceso) o por análisis no compartimental (métodos trapezoidal o logarítmico trapezoidal, a partir de la curva experimental) como en este caso. El AUC es también proporcional a la dosis de fármaco administrado.

El valor de AUC obtenido para alfaxalona en conejo ha sido de 3297.42  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Tabla 5 del Anexo) que corresponde a 197.84  $\text{mg}\cdot\text{min/L}$ . El AUC obtenido en el nuestro estudio es similar al obtenido en gatos (202.1  $\text{mg}\cdot\text{min/L}$ , Whitem et al., 2008), pero superior al obtenido en ratas (93.3  $\text{mg}\cdot\text{min/L}$ , Lau et al., 2013) tras la administración intravenosa de la misma dosis. Sin embargo, cuando se administró alfaxalona a caballos adultos (1  $\text{mg/kg}$ , Goodwin et al., 2011) y a potros neonatos (3  $\text{mg/kg}$ , Goodwin et al., 2012) premedicados, el valor de AUC fue de 29.0 y 160.5  $\text{mg}\cdot\text{min/L}$ , respectivamente. Se puede observar que precisamente en los individuos en que mayor dosis se utiliza, se obtienen valores de AUC más altos, pero no existe proporcionalidad entre ambos datos debido a la cinética no lineal antes mencionada de alfaxalona y a las previsibles diferencias en el metabolismo debido a la inmadurez enzimática en neonatos. En perros beagle se han encontrado valores de AUC de 35.5 y 198.0  $\text{mg}\cdot\text{min/L}$  tras la administración de dosis de 2 y 10  $\text{mg/kg}$  (Ferre et al., 2006); en este caso, existe proporcionalidad entre ambos datos, pero si se corrigiesen respecto a la dosis, resultarían ser inferiores a los obtenidos en el conejo. En perros galgo se obtuvo un valor medio de 49.6 (20.1-64.0)  $\text{mg}\cdot\text{min/L}$  tras la

administración de 2 mg/kg de alfaxalona (Pasloske et al., 2009), por lo que en estos animales existirá mayor exposición al fármaco que en perros de raza beagle, debido a sus bien conocidas características de metabolismo y eliminación más lentos (Zoran et al., 1993).

La concentración inicial ( $C_0$ ) alcanzada por alfaxalona tras su administración vía intravenosa a la dosis de 5 mg/kg en conejo ha sido de 8362.96  $\mu\text{g/L}$  (8.36 mg/L). Este parámetro es confundido en la mayoría de los estudios publicados en los que se describe la farmacocinética de alfaxalona. En estos estudios (excepto Lau et al., 2013), la concentración inicial  $C_0$  se identifica con la concentración plasmática máxima ( $C_{\text{max}}$ ), parámetro que solo se obtiene tras la administración extravascular de un fármaco y que da una idea de la extensión del proceso de absorción. Ambos parámetros, tanto  $C_0$  como  $C_{\text{max}}$ , son proporcionales a la dosis y por tanto varían cuando se aplican distintas pautas posológicas. Así en perro, Ferre et al (2006) han descrito valores de  $C_0$  de 2.3 y 9.4 mg/L tras la administración de 2 y 10 mg/kg respectivamente, resultados proporcionalmente inferiores a los obtenidos en el conejo. Sin embargo en rata, Visser et al. (2002) han encontrado valores similares de 10675.1 y 17095.0  $\mu\text{g/L}$  tras la administración intravenosa de 4.83 y 9.02 mg/kg, respectivamente. En potros y caballo adulto tras la administración de 3 y 1 mg/kg se obtuvieron valores de concentración inicial de 5.64 y 1.98 mg/L.

El **aclaramiento plasmático** en función del área bajo la curva (**CI**) y obtenido mediante análisis no compartimental que se ha obtenido en este estudio, ha sido de 1.55 L/kg·h (Tabla 5 del Anexo), que corresponde a 25.83 mL/kg·min. Este valor es similar al obtenido tras la administración de la misma dosis en gato (25.1 mL/kg·min, Whitem et al., 2008), pero bastante inferior al obtenido en rata de 54.3 mL/kg·min (Lau et al., 2013), lo que indica que la rata elimina de manera más eficiente y rápida la alfaxalona; lo hace en la mitad de tiempo. Por otro lado, el valor reportado en galgos de 32.8 mL/kg·min (Pasloske et al., 2009) es muy inferior al obtenido en perros beagle (59.4 mL/kg·min), confirmándose lo avanzado anteriormente, que la velocidad de eliminación y/o metabolismo de los

primeros es aproximadamente el 50 % que en perros Beagle (Ferre et al., 2006). En el caso de caballos adultos (1 mg/kg, Goodwin et al 2011) y potros neonatos (3 mg/kg, Goodwin et al., 2012), el aclaramiento obtenido es 37.1 y 19.2 mL/kg·min respectivamente, constatándose que la eliminación desde el organismo es más lenta en el caso de los neonatos.

El aclaramiento total es una variable farmacocinética clave que describe la eliminación total del fármaco desde el organismo, mediante todos los mecanismos (hepático, renal, respiratorio y otros). Clínicamente, es útil para calcular la velocidad de infusión necesaria para mantener unas concentraciones plasmáticas en estado estacionario del fármaco. El aclaramiento de alfaxalona en perro es de 59.4 mL/kg·min, siendo aproximadamente un 50-60 % del gasto cardiaco a la dosis de 2 mg/kg, pero se reduce en un 11 % cuando la dosis se incrementa a 10 mg/kg, ya que el aclaramiento disminuye a 52.9 mL/kg·min (Ferre et al., 2006). En la rata, con un valor de 71.9 mL/kg·min, supone el 33% del gasto cardiaco (Visser et al., 2000). En el gato, al aumentar la dosis de 5 a 25 mg/kg, el aclaramiento disminuyó de 25.1 a 14.8 mL/kg·min lo que supone una reducción del 41 % del gasto cardiaco (Whittem et al., 2008), siendo este de 5-10 % cuando el aclaramiento es de 25.1 mL/kg·min. En el caso de caballos adultos (premedicados) tras la administración de 1 mg/kg de alfaxalona, el aclaramiento de 37.1 mL/kg·min corresponde a un 46 % del gasto cardiaco (Goodwin et al., 2011).

Pese a las diferencias inter e intraespecíficas, los valores elevados de aclaramiento obtenidos para alfaxalona, a pesar de los volúmenes de distribución extensos, sugieren un aclaramiento metabólico rápido de la molécula original. El aclaramiento metabólico rápido se ha identificado como un mecanismo para la recuperación del estado anestésico inducido por alfaxalona (Sear y McGivan, 1981). De hecho, este aspecto fue comprobado por Whittem et al (2008) en un experimento realizado en gatos a los que se administró una dosis inicial de 5 mg/kg, y posteriormente 4 dosis de mantenimiento de 2 mg/kg cada vez que los animales respondían a estímulos dolorosos, aproximadamente cada 15 minutos en la hora

posterior a la inducción. En estas condiciones se constató que la regresión lineal de los picos de concentración plasmática tras cada dosis de mantenimiento suponía una acumulación del 1% de la dosis lo que no posee relevancia clínica. No se presentaron eventos adversos y la dosis de mantenimiento fue aproximadamente de 7-8 mg/kg/h.

En nuestro estudio, tras la administración de una dosis intravenosa de 5 mg/kg de alfaxalona a conejos, el tiempo de recuperación (medido desde la administración de alfaxalona) hasta lograr de forma espontánea la posición esternal fue de  $42.6 \pm 9.0$  min y la posición en pie a los  $55.2 \pm 11.2$  min. En este grupo no se obtuvieron sedaciones profundas ni un grado de anestesia quirúrgica. De media, se consigue una sedación moderada en los primeros 2-20 minutos cuando las concentraciones de alfaxalona son de forma aproximada superiores a 1.80 mg/L; una sedación suave se obtuvo a partir del minuto 25 hasta el 90 donde las concentraciones estuvieron comprendidas entre 1.5-0.4 mg/L y sedación nula a partir del minuto 100, momento en el cual, subjetivamente no se observaba ningún efecto sedante pero aún existían concentraciones plasmáticas detectables  $< 0.3$  mg/L (Tabla 1 del Anexo; Gráfica 1 y Gráfica 6).

Los resultados obtenidos en el conejo son difíciles de comparar con otros estudios debido a que los puntos de referencia para definir distintos grados de sedación y anestesia no se especifican, variando de unos a otros; así mismo, la aplicación de estímulos nociceptivos durante los procedimientos de evaluación en dichos estudios está o no presente. En gatos tras la misma dosis y vía, el tiempo de duración de la anestesia medido desde la intubación hasta la elevación espontánea de la cabeza fue de 45 minutos sin aplicación de ningún estímulo doloroso. Sin embargo, cuando se aplicó estimulación dolorosa análoga a una situación quirúrgica y el régimen de dosificación de un bolo de 5 mg/kg seguido de cuatro dosis de mantenimiento de 2 mg/kg, la duración fue sólo de 7 minutos (Whittem et al., 2008). En perros beagle, la duración de la anestesia medida desde la intubación (1º minuto) hasta la extubación fue de  $6.4 \pm 2.9$  min y  $26.2 \pm 7.5$  min tras la administración de dosis de 2 y 10 mg/kg, respectivamente (Ferre

et al., 2006). En el caso de galgos, la duración de la anestesia fue similar a la obtenida en beagles, siendo de  $7.1 \pm 1.7$  min con una dosis de 2 mg/kg (Pasloske et al 2009). Sin embargo, Child et al (1971) obtuvo tiempos más prolongados de  $20 \pm 3$  y  $206 \pm 8$  minutos tras la administración de 1.2 y 10.8 mg/kg respectivamente, pero de alfaxalona formulada con alfadolona (Saffan®), con Cremophor-EL como vehículo. En caballo adulto premedicado con acepromazina, xilacina y guaifenesina el tiempo de duración de la anestesia, con 1 mg/kg de alfaxalona, desde la inducción hasta lograr la posición esternal fue de  $42.7 \pm 8.4$  min, y en ponerse en pie de  $47.0 \pm 9.6$  min. Sin embargo, en potros premedicados con butorfanol y con una dosis de 3 mg/kg de alfaxalona, los tiempos medios desde la inducción hasta lograr el decúbito esternal o la posición en pie fueron de  $34.9 \pm 5.6$  y  $37.2 \pm 4.7$  minutos, respectivamente. Estos tiempos de recuperación en équidos premedicados y con menor dosis de alfaxalona son similares a los obtenidos en el conejo con la administración única de alfaxalona,

### **5.1.2 Administración Intramuscular de Alfaxalona**

El comportamiento farmacocinético de alfaxalona tras la administración intramuscular no ha sido descrito en ninguna especie animal hasta el momento; mas sus efectos farmacológicos y de eficacia clínica sí se han documentado (Kischinovsky et al., 2012; Rodrigo-Mocholi et al., 2015; Tamura et al., 2015). Por tanto, la discusión de los parámetros farmacocinéticos de este estudio se establecerá con respecto a los resultados obtenidos tras la administración intravenosa.

Los parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis no compartimental de las concentraciones plasmáticas de alfaxalona tras la administración intramuscular de una dosis de 5 mg/kg en el conejo se muestran en las Tablas 9 y 10 del Anexo. El valor de vida media obtenido tras la administración intramuscular ha sido de 1.87 horas, correspondiente a 112 minutos (Tabla 10 del Anexo). Este valor resulta ligeramente superior pero sin significación estadística al resultante tras la administración

intravenosa, que es de 1,61 horas (Tabla 5 del Anexo), lo que es indicativo, en principio, de que el proceso de absorción influye pero no se convierte en un factor limitante de la eliminación, como sucede en fármacos que siguen un modelo flip-flop.

Por otro lado, el valor del MRT, el cual es independiente de la ecuación de ajuste y se calcula directamente a partir de la curva experimental, alcanza un valor de 1.87 horas (Tabla 10 del Anexo). Este parámetro es 1.3 veces mayor que el descrito tras la administración intravenosa ( $MRT_{iv} = 1.57$  horas; Tabla 5 del Anexo). Esto es debido a que el parámetro  $MRT_{ev}$  incluye al tiempo medio de absorción (MAT), puesto que al hallar el momento estadístico 1 correspondiente a la curva de concentración plasmática-tiempo tras las vías extravasculares, estamos incluyendo la fase inicial correspondiente a la absorción. Por ello, el cálculo del tiempo medio de absorción se obtiene mediante la fórmula:  $MAT = MRT_{ev} - MRT_{iv}$ . En las Tablas 9 y 10 del Anexo, se presentan los valores correspondientes al MRT intramuscular y al tiempo medio de absorción (MAT); en tanto que el MRT intravenoso aparece en las Tablas 4 y 5 del Anexo. A la vista de los resultados obtenidos para cada uno de estos parámetros en los distintos animales, se puede apreciar cómo todos los animales presentan un valor de MAT inferior al MRT intravenoso. Si se consideran los valores medios obtenidos, resulta que el MRT intravenoso (1.57 horas) es casi 5 veces superior al MAT intramuscular (0.32 horas). De ello se concluye que en principio, según este parámetro no se produce un fenómeno flip-flop; es decir, el proceso de absorción de la alfaxalona tras su administración intramuscular, no condiciona su permanencia ni eliminación en el conejo.

Otro parámetro a tener en cuenta tras la administración intramuscular es el **tiempo en que se alcanza la concentración plasmática máxima o tiempo máximo** ( $t_{m\acute{a}x}$ ). El valor de este parámetro ha sido de 14 minutos (0,23 horas; Tabla 10 del Anexo). El  $t_{m\acute{a}x}$  es independiente de la dosis administrada, pero sí que varía en función de la forma farmacéutica administrada y de la vía de administración, ya que depende de la constante

de absorción. Su valor proporciona una idea de la velocidad de absorción, indicando que en el caso de alfaxalona el proceso de absorción desde el punto de inyección intramuscular es rápido. Datos farmacocinéticos de alfaxalona tras vías extravasculares solo hay disponibles en rata tras la administración intraperitoneal de 20 mg/kg (Lau et al., 2013). En este estudio, se reportó un valor de  $t_{max}$  de 12 minutos, valor muy similar al obtenido en conejos.

**La concentración plasmática máxima** ( $C_{m\acute{a}x}$ ), obtenida para alfaxalona en conejo, en nuestro estudio ha sido de 2053.93  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 10 del Anexo). En rata, tras la administración peritoneal de una dosis mucho más elevada (20 mg/kg), se ha obtenido un valor medio de  $C_{m\acute{a}x}$  de 2.99 mg/L, presentando una gran variabilidad comprendida entre 3.5 y 6.6 mg/L (Lau et al., 2013). Este valor resulta ser un 146,5 % del valor obtenido en conejo, mostrando por tanto, si se realizan correcciones por las distintas dosis utilizadas en uno y otro caso, una absorción más extensa tras la vía intramuscular en este último. En nuestra experiencia, la concentración inicial alcanzada por vía intravenosa ( $C_0$ ) es aproximadamente 4 veces superior a las concentraciones máximas experimentales alcanzadas por vía intramuscular.

Otro parámetro de interés es el **área bajo la curva** (AUC), obtenido tras la administración intramuscular, que alcanza un valor de 3659.38  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (219.56 mg·min/L). Lau et al. (2013) tras la administración intraperitoneal de una dosis 4 veces superior, obtiene un valor mucho más bajo, de 96.19 mg·min/L (78.3-105.9 mg·min/L), lo que indica que tras esta vía la absorción es menos extensa que tras la vía intramuscular. El AUC es un parámetro interesante, porque permite calcular la **biodisponibilidad** (F) tras la administración intramuscular. Para su cálculo, se han de relacionar las áreas totales bajo la curva de concentración plasmática obtenidas tras la administración intravenosa e intramuscular del fármaco, multiplicando dicha relación por el cociente entre la dosis intravenosa y la intramuscular. Por ello, para obtener la biodisponibilidad absoluta de un fármaco se necesita conocer el valor de AUC tras la administración intravenosa, ya que la dosis

que se introduce directamente en la circulación sanguínea está disponible en su totalidad; de ahí que se utilice como referencia (Gibaldi y Perrier, 1982; Wagner, 1983). La ecuación utilizada es la siguiente:

$$F = \frac{AUC \text{ i.m.} \cdot D \text{ i.v.}}{AUC \text{ i.v.} \cdot D \text{ i.m.}} \cdot 100$$

La biodisponibilidad de alfaxalona tras su administración intramuscular en el conejo ha sido muy elevada, alcanzando el 108.75 % de la dosis administrada. En el caso de la rata, tras la administración intraperitoneal de 20 mg/kg, Lau et al. (2013), obtienen un valor de 26 y 28 % cuando se utiliza como referencia el AUC alcanzado con la dosis intravenosa de 2 y 5 mg/kg, respectivamente. En realidad, este cálculo es erróneo porque se deben corregir las dosis para dar un único valor de F, que en el caso de la rata sería del 25 %. Estos autores justifican la escasa biodisponibilidad tras esta vía de administración, debido al importante efecto de primer paso mediante metabolismo hepático (Child et al., 1972; Sear y McGivan, 1981), ya que la alfaxalona tras la administración intraperitoneal entraría a circulación portal (Lukas et al., 1971).

En nuestro estudio, tras la administración de una dosis intramuscular de 5 mg/kg de alfaxalona a conejos, el tiempo de recuperación (medido desde la administración de alfaxalona) donde los animales logran de forma espontánea la posición esternal fue de  $63.6 \pm 13.8$  min y la posición en pie a los  $103.2 \pm 17.2$  min. En este grupo, no se obtuvieron sedaciones profundas ni un grado de anestesia quirúrgica. De media, se consigue una sedación suave en los primeros 15 minutos cuando las concentraciones de alfaxalona van aumentando conforme se produce la absorción hasta aproximadamente 1.80 mg/L; una sedación moderada a partir del minuto 20 al 35 donde las concentraciones estuvieron comprendidas entre 1.9-1.5 mg/L; de nuevo sedación moderada del minuto 40 al 100 donde las concentraciones bajan aproximadamente a 1.4 mg/L y sedación nula a partir del minuto 110, momento en el cual, subjetivamente no se observaba

ningún efecto sedante pero aún existían concentraciones plasmáticas detectables < 0.6 mg/L (Tabla 6 del Anexo; Gráfica 1 y Gráfica 6).

### **5.1.3 Administración Intravenosa de Alfaxalona en combinación con Dexmedetomidina por vía Intramuscular**

Los parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis no compartimental de las concentraciones plasmáticas de alfaxalona, tras la administración intravenosa en el conejo de una dosis de 5 mg/kg en combinación con una inyección intramuscular de dexmedetomidina a dosis de 0.1 mg/kg, se muestran en las Tablas 14 y 15 del Anexo. A continuación se van a comentar los parámetros más representativos.

El tiempo de vida media de la fase de disposición lenta ( $t_{1/2\lambda z}$ ), considerado como **tiempo de vida media o semivida** del fármaco (Gibaldi y Perrier, 1982) fue de 2.17 horas (130.2 minutos), que fue significativamente más prolongado que tras la administración única de alfaxalona (Tabla 21 del Anexo). El tiempo de vida media del presente estudio, es superior al encontrado en perros galgos de 42.1 minutos, siendo éstos premedicados con acepromacina (0.03 mg/kg) y morfina (0.3 mg/kg) antes de la administración de 2 mg/kg de alfaxalona (Pasloske et al., 2009). También, la semivida en los conejos de este estudio ha resultado superior al valor reportado en caballos adultos (33.4 min) a los que se premedicó con acepromacina (0.03 mg/kg) xilacina (1 mg/kg) y guaifenesina (35 mg/kg) antes de la administración de 1 mg/kg de alfaxalona (Goodwin et al., 2011).

En el presente estudio se ha obtenido un valor de MRT de 1.92 horas (115.2 min; Tabla 15 del Anexo). Este valor difiere significativamente del valor obtenido tras la administración intravenosa de alfaxalona en forma única (1.57; Tabla 5 y 21 del Anexo), encontrándose que la permanencia de alfaxalona en el conejo se prolonga en el caso de la combinación. En potros neonatos premedicados con butorfanol (0.05 mg/kg) y a los que se administró 3 mg/kg de alfaxalona (Goodwin et al., 2012), el MRT resultó más efímero ( $43.2 \pm 19.7$  min) que en los conejos del presente estudio.

El **volumen de distribución aparente**, calculado **en función del área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo ( $V_z$ )** de alfaxalona en combinación con dexmedetomidina en conejo, alcanza un valor de 5.01 L/kg, en tanto que el volumen de distribución en estado estacionario ( $V_{ss}$ ) adquiere un valor de 2.77 L/kg, obtenidos ambos valores por métodos no compartimentales (Tabla 15 del Anexo). Ambos valores no presentaron diferencias significativas con respecto a los valores de la administración única de alfaxalona (Tabla 21 del Anexo). Como se puede observar, estos valores son altos e indican que el fármaco en la combinación tiene también una amplia distribución en esta especie. En las referencias disponibles hasta el momento sobre estudios farmacocinéticos de alfaxalona en combinación con otros fármacos (generalmente administrados previamente a ésta), sólo se reportan valores de  $V_z$ . Así, el valor obtenido en galgos premedicados (Pasloske et al., 2009) fue de  $2.3 \pm 0.6$  L/kg, resulta inferior al de nuestro estudio, aunque también lo fue la dosis utilizada (2 mg/kg). En caballos adultos (Goodwin et al., 2011) y en potros (Goodwin et al., 2012), se determinaron valores de 1.6 y 0.6 L/kg respectivamente, tras la administración de una dosis de 1 mg/kg tras premedicación con acepromacina, xilacina y guaifenesina en el primer caso, y con 3 mg/kg de butorfanol en el segundo. Por lo tanto, la discrepancia en los valores de  $V_z$  obtenidos con alfaxalona entre los estudios comunicados por otros autores y los registrados en la presente investigación, se debe entre otros motivos a la administración de dosis diferentes, ya que éste parámetro es directamente proporcional a la dosis, y a la potencial influencia de los distintos fármacos utilizados como premedicación. Aún así, en el caso de los potros menores de 2 semanas de edad del estudio de Goodwin et al (2012), es destacable el limitado volumen de distribución obtenido, que puede explicarse debido a la alta liposolubilidad de alfaxalona y la menor proporción lípidos/agua en el organismo de estos individuos neonatos, al igual que sucede con diazepam (Norman et al., 1977).

El **área bajo la curva de nivel plasmático (AUC)**, es un parámetro que nos permite calcular el aclaramiento plasmático y la biodisponibilidad del fármaco tras su administración extravascular. El AUC es también

proporcional a la dosis de fármaco administrado. El valor de AUC obtenido para alfaxalona combinada con dexmedetomidina en conejo ha sido de  $3540.61 \pm 662.40 \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Tabla 15 del Anexo), que corresponde a  $212.44 \pm 39.72 \text{ mg}\cdot\text{min/L}$ , el cual no ha resultado significativamente distinto respecto al valor de la administración intravenosa de alfaxalona en forma única (Tabla 21 del Anexo). El AUC obtenido en el presente estudio es similar al obtenido en potros neonatos ( $160.5 \pm 41.5 \text{ mg}\cdot\text{min/L}$ , Goodwin et al., 2012) con una dosis de 3 mg/kg de alfaxalona, y superior al obtenido en caballos adultos ( $29.0 \pm 7.9 \text{ mg}\cdot\text{min/L}$ , Goodwin et al., 2011) tras la administración intravenosa de 1 mg/kg. Se puede observar, que precisamente en los individuos en que mayor dosis se utiliza se obtienen valores de AUC más altos, pero no existe proporcionalidad entre ambos datos debido a la cinética no lineal antes mencionada de alfaxalona, y a las previsibles diferencias en el metabolismo debido a la inmadurez enzimática en neonatos.

La concentración inicial ( $C_0$ ) alcanzada por alfaxalona tras su administración vía intravenosa en combinación ha sido de  $9417.69 \mu\text{g/L}$  ( $9.42 \text{ mg/L}$ ). En potros y caballo adulto tras la administración de 3 y 1 mg/kg se obtuvieron valores de concentración inicial de 5.64 y 1.98 mg/L.

El **aclaramiento plasmático (Cl)** ha sido de  $1.45 \text{ L/kg}\cdot\text{h}$  (Tabla 15 del Anexo), que corresponde a  $24.17 \text{ mL/kg}\cdot\text{min}$ . Este valor no ha presentado diferencias significativas con respecto a la administración en forma única de alfaxalona en este estudio (Tabla 21 del Anexo). Este valor es similar al obtenido tras la administración de la misma dosis de alfaxalona (de forma única) en gato ( $25.1 \text{ mL/kg}\cdot\text{min}$ , Whitem et al., 2008), pero bastante inferior al obtenido en rata de  $54.3 \text{ mL/kg}\cdot\text{min}$  (Lau et al., 2013), lo que indica que la rata elimina de manera más eficiente y rápida la alfaxalona; lo hace en la mitad de tiempo. Por otro lado, el valor reportado en galgos premedicados, de  $36.9 \text{ mL/kg}\cdot\text{min}$  (Pasloske et al., 2009) siendo la dosis de 2 mg/kg, indica que en perros la alfaxalona se elimina más rápidamente que en conejo, lo que se corresponde de forma inversamente proporcional con lo afirmado anteriormente sobre la vida media. En el caso

de caballos adultos (1 mg/kg, Goodwin et al 2011) y potros neonatos (3 mg/kg, Goodwin et al., 2012), el aclaramiento obtenido es 37.1 y 19.2 mL/kg·min respectivamente, constatándose que la eliminación desde el organismo es más lenta en el caso de los neonatos.

En nuestro estudio, tras la administración de una dosis intravenosa de 5 mg/kg de alfaxalona combinada con dexmedetomidina a conejos, el tiempo de recuperación (desde la administración de alfaxalona) donde los animales logran de forma espontánea la posición esternal fue de 159.8 min y la posición en pie a los 212.2 min. En este grupo sí se obtuvieron sedaciones profundas y en uno de los animales, el conejo 4, alcanzó el grado de anestesia quirúrgica, lo que coincide con sus concentraciones plasmáticas, siendo las suyas las más elevadas. De hecho, al observar el gráfico 3 del Anexo donde se comparan las concentraciones plasmáticas de alfaxalona tras la administración intravenosa en forma única y en combinación, se constata que las concentraciones de esta última aunque paralelas, permanecen por encima durante toda la experiencia. De media, se consigue una sedación profunda del minuto 10-30 cuando las concentraciones de alfaxalona medias están comprendidas entre 3.9 y 1.4 mg/L; sedación moderada desde el minuto 35 al 150 donde las concentraciones descienden hasta 0.33 mg/L, y sedación suave hasta el minuto 280 cuando las concentraciones caen a 0.13 mg/L. Consecuentemente, hay una potenciación del efecto entre alfaxalona y dexmedetomidina, puesto que los niveles de concentración plasmática alcanzados por alfaxalona cuando es administrada en combinación no se elevan de manera estadísticamente significativa respecto a la administración única, pero sí se detecta una prolongación de la permanencia del fármaco (Tabla 12 y Gráfico 3 del Anexo; Gráfica 6). En caballo adulto premedicado con acepromacina, xilacina y guaifenesina el tiempo de duración de la anestesia con 1 mg/kg de alfaxalona, desde la inducción hasta lograr la posición esternal fue de  $42.7 \pm 8.4$  min, y en ponerse en pie de  $47.0 \pm 9.6$  min. Sin embargo, en potros premedicados con butorfanol y con una dosis de 3 mg/kg de alfaxalona, los tiempos medios desde la inducción hasta lograr el decúbito esternal o la posición en

pie fueron de  $34.9 \pm 5.6$  y  $37.2 \pm 4.7$  minutos, respectivamente. Estos tiempos de recuperación en équidos premedicados y con menor dosis de alfaxalona, son mucho más cortos que los obtenidos en el conejo con la administración de alfaxalona en combinación con dexmedetomidina.

#### **5.1.4 Administración Intramuscular de Alfaxalona en combinación con Dexmedetomidina por vía Intramuscular**

El comportamiento farmacocinético de alfaxalona tras la administración intramuscular en combinación con dexmedetomidina, no ha sido descrito en ninguna especie animal hasta el momento, por el contrario, sí se han documentado sus efectos farmacológicos y eficacia clínica en el gato (Rodrigo-Mocholi et al., 2015). Por tanto, la discusión de los parámetros farmacocinéticos de este estudio se establecerán con respecto a los resultados obtenidos tras la administración intravenosa de la combinación. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis no compartimental de las concentraciones plasmáticas de alfaxalona, tras la administración intramuscular de una dosis de 5 mg/kg en combinación con dexmedetomidina en el conejo, se muestran en las Tablas 19 y 20 del Anexo.

El valor de vida media obtenido tras la administración intramuscular de alfaxalona en la combinación ha sido de 1.67 horas, correspondiente a 100.2 minutos (Tabla 10 del Anexo). Este valor resulta ligeramente inferior, pero sin significación estadística, al resultante tras la administración intravenosa en combinación, que es de 2.17 horas (Tabla 15 del Anexo), lo que es indicativo, en principio, de que el proceso de absorción no influye en la eliminación.

Por otro lado, el valor del MRT alcanza un valor de 2.56 horas (Tabla 10 del Anexo). Este parámetro es 1.3 veces mayor que el descrito tras la administración intravenosa de la combinación ( $MRT_{iv} = 1.95$  horas; Tabla 15 del Anexo). Esto es debido a que el parámetro  $MRT_{ev}$  incluye al tiempo medio de absorción (MAT); por ello, el cálculo del tiempo medio de

absorción se obtiene mediante la fórmula:  $MAT = MRT_{ev} - MRT_{iv}$ . En las Tablas 19 y 20 del Anexo, se presentan los valores correspondientes al MRT intramuscular y al tiempo medio de absorción (MAT); el MRT intravenoso aparece en las Tablas 14 y 15 del Anexo. A la vista de los resultados obtenidos para cada uno de estos parámetros en los distintos animales, se puede apreciar cómo todos los animales presentan un valor de MAT inferior al MRT intravenoso. Si se consideran los valores medios obtenidos, resulta que el MRT intravenoso (1.95 horas) es 2.9 veces superior al MAT intramuscular (0.68 horas). De ello se concluye que en principio, según este parámetro, no se produce un fenómeno flip-flop; es decir, el proceso de absorción de la alfaxalona tras su administración intramuscular en combinación, no condiciona su permanencia ni eliminación en el conejo.

Otro parámetro a tener en cuenta tras la administración intramuscular es el **tiempo en que se alcanza la concentración plasmática máxima o tiempo máximo** ( $t_{m\acute{a}x}$ ). El valor de este parámetro ha sido de 10 minutos (0,17 horas; Tabla 10 del Anexo). El  $t_{m\acute{a}x}$  es independiente de la dosis administrada, pero sí que varía en función de la forma farmacéutica administrada y de la vía de administración, ya que depende de la constante de absorción. Su valor proporciona una idea de la velocidad de absorción, indicando que en el caso de alfaxalona, el proceso de absorción desde el punto de inyección intramuscular es rápido. Datos farmacocinéticos de alfaxalona tras vías extravasculares solo hay disponibles en rata tras la administración intraperitoneal de 20 mg/kg (Lau et al., 2013). En este estudio se reportó un valor de  $t_{m\acute{a}x}$  de 12 minutos, valor muy similar al obtenido en conejos con la combinación.

**La concentración plasmática máxima** ( $C_{m\acute{a}x}$ ) obtenida para alfaxalona en combinación en nuestro estudio, ha sido de 1578.20  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 20 del Anexo), siendo inferior a la obtenida tras la administración intramuscular de alfaxalona en forma única, pero sin presentar diferencias significativas, debido a la mayor variabilidad de los datos obtenidos con la administración intramuscular de la combinación. En rata tras la

administración peritoneal de una dosis mucho más elevada (20 mg/kg), se ha obtenido un valor medio de  $C_{m\acute{a}x}$  de 2.99 mg/L, presentando una gran variabilidad comprendida entre 3.5 y 6.6 mg/L (Lau et al., 2013). Este valor resulta ser un 189 % del valor obtenido en conejo, mostrando por tanto, si se realizan correcciones por las distintas dosis utilizadas en uno y otro caso, una absorción más extensa tras la vía intramuscular en este último. En nuestra experiencia la concentración inicial alcanzada por vía intravenosa de la combinación ( $C_0$ ), es aproximadamente 6 veces superior a las concentraciones máximas experimentales alcanzadas por vía intramuscular.

Otro parámetro de interés es el **área bajo la curva** (AUC), obtenido tras la administración intramuscular de la combinación, que alcanza un valor de 3754.56  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (225.27 mg·min/L). Lau et al. (2013) tras la administración intraperitoneal de una dosis 4 veces superior obtiene un valor mucho más bajo de 96.19 mg·min/L (78.3-105.9 mg·min/L) lo que indica que tras esta vía la absorción es menos extensa que tras la vía intramuscular.

La biodisponibilidad de alfaxalona tras su administración intramuscular en combinación con dexmedetomidina en el conejo ha sido muy elevada, alcanzando el 105.84 % de la dosis administrada. En el caso de la rata, tras la administración intraperitoneal de 20 mg/kg, Lau et al. (2013) obtienen un valor de 25 %. Estos autores justifican la escasa biodisponibilidad tras esta vía de administración debido al importante efecto de primer paso mediante metabolismo hepático (Child et al., 1972; Sear y McGivan, 1981), ya que la alfaxalona tras la administración intraperitoneal entraría a circulación portal (Lukas et al., 1971).

En nuestro estudio, tras la administración de una dosis intramuscular de 5 mg/kg de alfaxalona a conejos, el tiempo de recuperación (desde la administración de alfaxalona) hasta lograr de forma espontánea la posición esternal fue de 183 min y la posición en pie a los 225 min. En este grupo se obtuvieron sedaciones profundas pero no un grado de anestesia quirúrgica. De media, se consigue una sedación moderada en los primeros 5 minutos

cuando las concentraciones de alfaxalona van aumentando conforme se produce la absorción hasta aproximadamente 0.9 mg/L; una sedación profunda a partir del minuto 10 al 50 donde las concentraciones estuvieron comprendidas entre 1.3-1.1 mg/L; de nuevo sedación moderada del minuto 60 al 170 donde las concentraciones bajan aproximadamente hasta 0.5 mg/L y sedación suave a partir del minuto 180-310, donde las concentraciones caen a niveles de 0.3 mg/L, a partir del minuto 320 no se observa sedación pero aún existían concentraciones plasmáticas detectables < 0.2 mg/L (Gráfica 6; Tabla 16 y Gráfico 2 del Anexo). Es clara la potenciación sobre la duración del efecto sedante cuando se aplican conjuntamente alfaxalona y dexmedetomidina ya que las concentraciones requeridas de alfaxalona para obtener y sobre todo, mantener los distintos estados de sedación, son mucho más bajas que en los experimentos relacionados anteriormente en este estudio.

## 5.2 ASPECTOS ANESTÉSICOS

La sedación y/o anestesia en los conejos supone un reto para el veterinario, documentándose una elevada tasa de mortalidad en esta especie en comparación a la anestesia de perros y gatos (Brodbelt 2008). De cara a la restricción química de los conejos se han empleado diferentes combinaciones neuroleptoanalgésicas o anestésicas. Algunos ejemplos de éstas técnicas son las combinaciones de medetomidina, ketamina y buprenorfina (Murphy et al., 2010), medetomidina, fentanilo y midazolam, xilacina y ketamina (Henke et al., 2005), dexmedetomidina y propofol con y sin sevoflurano (Terada et al., 2014) por nombrar algunas. Como puede observarse, el uso de agonistas alfa-2 suele ser un denominador común en estas técnicas de sedación o anestesia. Esto se debe principalmente a las bondades de estos sedantes, como son la tranquilización, la ansiólisis, la relajación muscular, la analgesia (Lukasik, 1999), así como la disminución que inducen de los requerimientos de anestésicos generales inyectables o inhalados (Murrel y Hellebrekers, 2005). Además, estos fármacos poseen antagonistas específicos (Lemke, 2007), lo cual supone una ventaja importante sobre otros sedantes y por ello suelen ser una elección habitual

dentro de los diversos protocolos anestésicos documentados. En esta especie, cobra aún si cabe más importancia la obtención de un grado de recuperación rápida, con el objetivo de minimizar accidentes o complicaciones que aparecen principalmente en el periodo postanestésico (Dugdale, 2010; Green, 1975).

La alfaxalona es un anestésico esteroideo, que junto con la alfadolona formaban parte de un compuesto denominado como Saffan®, el cual gozó de gran popularidad en el Reino Unido especialmente en anestesia felina (Hughes, 2008). Tras su retirada del mercado hace años, volvió a introducirse recientemente bajo una nueva formulación con ciclodextrinas, esta vez sin alfadolona. A pesar de que existen ya algunos estudios con alfaxalona en conejos (Grint et al, 2008; Marsh et al., 2009; Huynh et al., 2015), son muy pocos los que a día de hoy han analizado el grado de sedación en profundidad; dichos estudios se han enfocado fundamentalmente hacia el análisis de los efectos cardiorrespiratorios. En nuestra experiencia para la valoración del grado de sedación se tuvieron en cuenta 5 parámetros: la postura espontánea, el tono muscular, la respuesta al ruido, el grado de analgesia auricular y digital, y el grado de anestesia quirúrgica.

En la parte farmacocinética/farmacodinámica (FC/FD) de nuestro estudio, se observó que todos los animales alcanzaron un grado de sedación tal que les impedía levantarse, particularmente del minuto 15 al 35. En este periodo de tiempo no existieron diferencias significativas entre los grupos objeto del estudio. Así mismo, se observó el sinergismo entre la dexmedetomidina y la alfaxalona. Esto se puso claramente de manifiesto durante la recuperación de la posición a decúbito esternal y estación, que fueron significativamente más largas en los animales que recibieron ambos fármacos. No existieron diferencias significativas en la recuperación entre grupos alfaxalona sola (IV o IM), así como tampoco entre los grupos dexmedetomidina y alfaxalona (IM o IV). Por otro lado, a pesar de obtener las máximas puntuaciones en cuanto a la postura espontánea con incapacidad para levantarse, el tono muscular (valorado como la capacidad para abrir la boca y/o intentar sacar la lengua), fue escaso en aquellos

animales a los que se les administró únicamente alfaxalona. En estos animales, la manipulación de la boca resultaba dificultosa dada su escasa relajación muscular, lo que hubiese impedido la exploración de la cavidad bucal o la intubación oro-traqueal si ese hubiese sido nuestro objetivo. En perros, Tamura et al. (2015) lograron la intubación oro-traqueal en todos sus animales con dosis intramusculares de 7,5 y 10 mg/kg. En esta misma línea, Grint et al. (2008) afirman en su estudio, que con dosis de 2 y 3 mg/kg de alfaxalona por vía intravenosa fue posible la intubación de todos los conejos de su experiencia; sin embargo, en este estudio la alfaxalona se administró junto con buprenorfina. Esta mayor capacidad sedante/anestésica probablemente se deba a una actividad sinérgica entre la buprenorfina y la alfaxalona. En nuestra experiencia, aún duplicando las dosis de alfaxalona con las que estos autores trabajaron (5 mg/kg en nuestro caso), la disminución del tono muscular fue escasa cuando la alfaxalona fue empleada como único agente. Esta capacidad sinérgica de la alfaxalona con otros fármacos queda claramente demostrada en nuestra experiencia tras su combinación con dexmedetomidina. Las combinaciones de estos dos fármacos llevaron a todos los animales a obtener las máximas puntuaciones en cuanto a disminución del tono muscular. Además, el efecto más sostenido en el tiempo se produjo al administrar la dexmedetomidina y la alfaxalona por vía IM, y un efecto más transitorio pero casi inmediato cuando se administró la dexmedetomidina y justo después la alfaxalona por vía IV. Entre estos grupos solo existieron diferencias significativas en los minutos 2 y 5, probablemente debido a la inmediatez del inicio de acción de la alfaxalona IV. Dicha relajación y disminución del tono muscular se debe en gran parte a los efectos sedantes y mio-relajantes, más que reconocidos de los agonistas alfa-2 (Lukasik, 1999; Granholm M. et al. 2006; Mato et al. 2002). Así pues, creemos que varios de los animales de nuestra experiencia hubiesen podido ser intubados. Nuestros resultados en este sentido no concuerdan con los hallazgos de Navarrete-Calvo et al. (2014), quienes en su estudio piloto, aún usando dosis de alfaxalona de 2, 4, 6 y 8 mg/kg en conejos premedicados con morfina y medetomidina obtuvieron sedaciones inadecuadas para la intubación oro-traqueal. En nuestra experiencia clínico/anestésica se

observó más variabilidad en cuanto al tono muscular, manifestando un mejor efecto clínicamente el grupo DMAMa frente al grupo DMAVa, donde la disminución del tono fue escasa. A pesar de ello, no existieron diferencias significativas entre ambos grupos.

Huynh et al. (2015) evaluaron la hipnosis/analgesia aportada por la administración intramuscular de alfaxalona sin combinarlo con ningún otro fármaco en conejos a diferentes dosis. Para ello, al igual que en nuestro estudio utilizaron el pinzamiento de la oreja y del espacio interdigital. Estos autores observaron que todos los animales respondían a los dos tipos de estímulo. Sus resultados coinciden con los nuestros para la analgesia digital y auricular en los animales incluidos en la experiencia FC/FD, donde todos respondieron a los estímulos nociceptivos. Se ha documentado que la alfaxalona posee escaso efecto analgésico por sí misma, tal como lo describen en su experiencia Murison y Martínez-Taboada (2010), quienes desarrollaron su estudio en gatas premedicadas únicamente con acepromacina e inducidas con alfaxalona, y a las cuales se les practicó una ovariectomía. Estos autores registraron que en más del 50 % de los casos fue necesario el uso de analgesia de rescate. Sin embargo, diversos autores observaron en ratas, que la alfaxalona brindaba cierto efecto analgésico preventivo, comparado con el propofol o el pentobarbital (Gillon y Coderre, 1996; Nadeson y Goodchild, 2001). Por contra, los efectos analgésicos de los agonistas alfa-2 adrenérgicos son bien reconocidos (Nilsfors et al., 1989; Hall et al., 2001; Paddleford, 2001). Esto explica el grado de analgesia encontrado en nuestra experiencia en los grupos a los que se les administró dexmedetomidina en combinación con alfaxalona. Tras el empleo de la combinación de ambos fármacos se observó que algunos animales llegaron a obtener altas puntuaciones de analgesia, e incluso ausencia de respuesta al clampado digital y auricular. A pesar del claro incremento de la cobertura analgésica, ninguno de los animales llegó a niveles de *anestesia quirúrgica*, salvo en 1 animal perteneciente al grupo DMAVf en la experiencia FC/FD. Esto demuestra que la combinación dexmedetomidina/alfaxalona podría ser una buena alternativa para procedimientos que impliquen un estímulo doloroso de suave a moderado.

Así mismo, de ser necesario un aporte analgésico superior, podrían agregarse opioides a la combinación, teniendo en cuenta sus efectos colaterales sobre el sistema digestivo en estos animales. Además, en este tipo de combinaciones, las dosis deben ajustarse estrechamente ya que el sinergismo de los 3 tipos de fármacos pueden deprimir de forma importante e incluso peligrosa la función respiratoria, tal como lo describe en su experiencia Navarrete-Calvo et al. (2014). Dichos autores combinaron alfaxalona con agonistas alfa-2 y opioides, teniendo que emplear ventilación asistida tras la inducción a prácticamente todos los animales de su estudio, a pesar de haber sido preoxigenados, debido a los largos periodos de apnea observados.

Con el fin de analizar el *grado de sedación total*, se decidió diseñar una escala de valoración que permitiese agrupar los efectos obtenidos de cada parámetro evaluado. Esta escala define cuatro grados de sedación (*nula, suave, moderada y profunda*) y uno de *anestesia quirúrgica*. En la experiencia FC/FD ninguno de los 2 grupos a los que les fue administrada sólo alfaxalona logró alcanzar un grado de sedación profunda. Pese a ello, todos los animales alcanzaron el decúbito lateral sin capacidad para levantarse. En gatos, Rodrigo-Mocholí et al. (2015) empleando una escala de sedación/anestesia similar a la nuestra, encontraron que tras la administración IM de alfaxalona a dosis de 5 mg/kg sin combinación, alguno de los felinos obtuvieron calificaciones de sedación profunda e incluso estados compatibles con anestesia. De forma concordante con la suave o moderada sedación obtenida en los animales de nuestra experiencia a los que se les administró únicamente alfaxalona, la valoración del grado de analgesia, la disminución del tono muscular y la reacción a los estímulos sonoros (respuesta al ruido), en estos animales fue bastante pobre. Nuestros hallazgos coinciden con la experiencia de Huynh et al. (2015) quienes también administraron alfaxalona (4, 6 y 8 mg/kg IM) sin combinación a conejos, los cuales aún perdiendo la estación y llegando al decúbito lateral, mantuvieron la respuesta a los estímulos nociceptivos en todos los casos, evidenciando la pobre analgesia que la alfaxalona otorga por sí sola (Muir et al., 2009) en esta especie.

En el caso de los grupos dexmedetomidina con alfaxalona de la experiencia FC/FD, se alcanzaron sedaciones profundas hasta el minuto 30 y el 50 para los grupos DMAVf y DMAMf respectivamente. Estas observaciones van en consonancia con lo hallado en gatos por Grubb et al. (2013). Estos autores combinaron alfaxalona (5 mg/kg) a dexmedetomidina con y sin hidromorfona, logrando la intubación en todos sus animales. En la experiencia clínico/anestésica, a pesar de no existir diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, se observaron mejores sedaciones, más *profundas* a partir del minuto 20 postinyección de la alfaxalona en el grupo DMAMa. Por el contrario, en el grupo DMAVa no llegó a producirse *sedación profunda* y sólo se consiguió un efecto de sedación *moderada*. Marsh et al. (2009) usaron en conejos dosis de medetomidina proporcionales a las nuestras junto a alfaxalona a 5 mg/kg. En este estudio comentan que la combinación fue útil para la inducción de la anestesia y posterior mantenimiento con isofluorano. La misma combinación usada en nuestra experiencia se ha estudiado en perros (Quirós et al., 2014) y gatos (Rodrigo-Mocholí et al., 2015) con resultados variables en el nivel de sedación. A pesar de que en estos estudios la metodología usada ha sido diversa, el grado de sedación podría ser óptimo para procedimientos medianamente dolorosos. En la práctica, podría decirse que a las dosis usadas en nuestro estudio, la combinación de dexmedetomidina (0,1 mg/kg) y alfaxalona (5 mg/kg) aporta un grado de sedación profunda adecuado para la realización de diversos procedimientos poco o medianamente invasivos. Sin embargo, en el caso de la administración IM de dexmedetomidina de forma previa a la alfaxalona *a las dosis usadas en nuestro caso*, la depresión ventilatoria resulta muy manifiesta, pudiendo ser peligrosa.

En la experiencia FC/FD se determinó la FC en conejos usando alfaxalona con y sin combinación con dexmedetomidina. En esta experiencia, la FC aumentó mínimamente tras el empleo de alfaxalona de forma individual, con ligeras fluctuaciones a lo largo del periodo registrado, independientemente de la vía de administración. Estos resultados coinciden plenamente con las conclusiones de Grint et al. (2008) quienes

usando dosis de 2 y 3 mg/kg de alfaxalona en conejos premedicados con buprenorfina tampoco encontraron cambios apreciables sobre la FC. Huynh et al. (2015) también usaron alfaxalona por vía IM sin combinación en conejos, encontrando igualmente que la FC no sufre variaciones relevantes, aún usando dosis más elevadas que en nuestro caso (6 y 8 mg/kg). En gatos, Muir et al. (2008) tampoco observaron alteraciones sobre el gasto cardiaco en gatos anestesiados con alfaxalona. Por el contrario, en nuestro estudio la FC en los grupos que recibieron dexmedetomidina mostraron reducciones similares a las observadas posteriormente en la experiencia clínico/anestésica, resultando significativamente diferentes respecto a los grupos a los que se les administró alfaxalona sola.

Los efectos que ejercen los agonistas alfa-2 sobre el sistema cardiovascular son bien reconocidos, poniéndose en evidencia en el presente estudio. A lo largo de la experiencia clínico/anestésica, la FC mostró un descenso paulatino y mantenido. A pesar de que las tendencias fueron similares para ambos grupos, existieron diferencias significativas a lo largo de los 90 minutos de la experiencia. La dexmedetomidina induce inicialmente una bradicardia refleja consecuencia del incremento que produce sobre la resistencia vascular periférica. Una de las dudas surgidas en nuestro estudio era si la administración de alfaxalona sería capaz de contrarrestar la capacidad bradicardizante de la dexmedetomidina. El grupo DMAMa en el que se administró la dexmedetomidina 15 minutos antes, la alfaxalona no fue capaz de mitigar la bradicardia originada por el alfa-2. Estos resultados contrastan con el grupo DMAVa donde la FC fue significativamente más alta, debido probablemente al efecto de la alfaxalona IV administrada inmediatamente después de la inyección IM de dexmedetomidina. Así, el efecto de la alfaxalona sobre la función cardiovascular es inmediato, causando una ligera vasodilatación y aumento de la frecuencia cardiaca como respuesta compensatoria, tal como ocurre en gatos (Muir et al., 2009). Posteriormente el efecto bradicardizante de la dexmedetomidina va haciéndose manifiesto, pero de un modo amortiguado. Estos resultados van en consonancia con los obtenidos en conejos por Bellini et al. (2014), quienes usaron dexmedetomidina junto a midazolam, y

Navarrete-Calvo et al. (2014) empleando la combinación de medetomidina, morfina, alfaxalona e isoflurano. En ratas Burnside et al., (2013) obtuvieron resultados similares, mostrando que de manera interespecífica, la inclusión de un agonista alfa-2 en el protocolo sedante/anestésico tiene claras repercusiones hemodinámicas, llevando a los animales al desarrollo de bradicardia.

La frecuencia respiratoria en ambas experiencias mostró comportamientos similares manifestándose como una “L”, caracterizada por un descenso notable a partir de los valores basales con una posterior estabilización en el tiempo. En la experiencia clínico/anestésica, la administración previa de dexmedetomidina en el grupo DMAMa, ocasionó el descenso de la FR; contrariamente, Selmi et al. (2003) no observaron reducciones en la frecuencia respiratoria a dosis normales de dexmedetomidina en gatos. A pesar de ello, está demostrado que la disminución de la frecuencia respiratoria está íntimamente relacionada con la combinación de agonistas alfa-2 con analgésicos opioides u otros fármacos depresores del sistema nervioso, como es el caso de los anestésicos (Sinclair, 2003). En nuestra experiencia, la posterior administración de alfaxalona hizo que la FR descendiese aún más. En el caso de la experiencia FC/FD existieron escasas diferencias significativas tanto entre los grupos que recibieron sólo alfaxalona como entre los grupos en los que se combinó con dexmedetomidina. Estas diferencias se observaron básicamente al inicio de la experiencia, seguramente producidas por la rapidez del inicio de acción de la alfaxalona por vía intravenosa. De esta manera, los resultados coinciden con hallazgos de otros autores como González et al. (2012), quienes observaron que tras la administración de alfaxalona intravenosa en conejos, la FR descendía en los primeros 10 minutos, prolongándose hasta los 60. Igualmente Huynh et al. (2015) evaluaron la administración de alfaxalona por vía IM en conejos a diferentes dosis, obteniendo el mismo tipo de gráfico en “L”, y concluyendo que la depresión respiratoria es dosis dependiente, coincidiendo también con las observaciones de Nishida et al. (2002).

La monitorización de la presión arterial es básica y mandatoria dentro de la planificación de la anestesia en humanos (Association of Anaesthetists of Great Britain and Ireland, 2007), así como en medicina veterinaria (American College of Veterinary Anesthesiology, 1995). En conejos, la hipotensión generalmente ocurre como resultado de la depresión cardiovascular originada por sedantes (Lemke, 2007) y anestésicos (Harvey et al., 2012), pudiendo exacerbarse por la hemorragia quirúrgica y comprometer la perfusión de órganos vitales. La presión arterial (PAS, PAD y PAM) en nuestra experiencia, no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Sin embargo, las presiones arteriales obtenidas evidencian la acción ejercida por la dexmedetomidina sobre ellas, tras comprobar su reducción en el grupo DMAMa, cuando se registraron a los 15 minutos posteriores a la inyección IM de dexmedetomidina, previamente a la administración de la alfaxalona. Esta disminución en la presión arterial va en consonancia con lo expuesto por Xu et al. (1998), quienes detectaron un comportamiento bifásico en la presión arterial de los conejos, en similitud con lo que ocurre en humanos (Khan et al. 1999). Esta evolución de la presión arterial difiere de lo que sucede en otros animales como el perro, donde el efecto vasoconstrictor de la dexmedetomidina es persistente y por tanto la presión arterial suele mantenerse estable (Kuusela et al., 2000). Si se tiene en cuenta que autores como Harvey et al. (2012) y Tamura et al. (2015) consideran hipotensión clínica a PAS por debajo de 80 mmHg y PAM por debajo de 60 mmHg, los valores de las presiones obtenidos en nuestra experiencia, si bien están ligeramente por debajo, rozan el límite inferior considerado como normal. A dosis equipotentes a las usadas en nuestro estudio con dexmedetomidina (medetomidina 0,2 mg/kg) junto con alfaxalona 2 mg/kg y morfina (1 y 2 mg/kg), Navarrete-Calvo et al. (2012) encontraron PAM hasta de  $50 \pm 6$  mmHg en su experiencia. Estos resultados podrían evidenciar que la acción de la morfina potencia la hipotensión, teniendo en cuenta sus efectos reconocidos sobre la presión arterial (Lamont y Mathews, 2007). En conclusión, lo más probable es que las presiones arteriales obtenidas en nuestro estudio, se deban principalmente a la acción de la dexmedetomidina (De la Barrera et al., 2006; Murrel y Hellebrekers, 2005), sumado al escaso efecto vasodilatador

de la alfaxalona, sabiendo que ésta por sí sola, tiene escasa repercusión sobre la función cardiovascular a dosis normales (Tamura et al., 2015).

Tras valorar la oxigenación y la ventilación en nuestra experiencia clínico/anestésica, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en la capnografía y en la PaCO<sub>2</sub>. A pesar de que los rangos normales de PaCO<sub>2</sub> en conejos no están bien establecidos, se consideran valores correlacionados con hipoventilación, a aquellos que se encuentren por encima de 45 mmHg (Schroeder y Smith, 2011). En nuestro caso, solamente un animal perteneciente al grupo DMAMa llegó a presentar valores en la PaCO<sub>2</sub> ligeramente superiores a los 45 mmHg en los minutos 30 y 60 postadministración de alfaxalona, siendo los valores medios en nuestra experiencia de 35±2 mmHg en el grupo DMAMa y de 33±2 mmHg para el grupo DMAVa. Por otro lado, tras analizar comparativamente los valores obtenidos de ETCO<sub>2</sub> y PaCO<sub>2</sub> encontramos que no hay concordancia entre ellos en los primeros minutos registrados, ya que observamos valores más altos de ETCO<sub>2</sub> que de PaCO<sub>2</sub>, lo que resulta difícil de explicar. Se ha documentado con frecuencia la situación contraria, es decir ETCO<sub>2</sub> inferiores a la PaCO<sub>2</sub> como consecuencia de alteraciones en el ratio ventilación perfusión. Estas situaciones son muy frecuentes sobre todo en la especie equina. Kuehn y Gordon (2012) comentan que los valores de la PaCO<sub>2</sub> pueden alterarse y verse disminuidos debido, entre otros factores, a la heparina de la jeringa recolectora o a la misma manipulación de la muestra. En nuestro caso y pese a que pensamos que la manipulación de las muestras se realizó meticulosamente, no podemos descartar una posible exposición de la muestra al ambiente que facilitase la disminución la PaCO<sub>2</sub>. Otros autores observan valores más elevados que los nuestros, llegando a obtener registros de PaCO<sub>2</sub>, de hasta 68±8 mmHg en animales premedicados con medetomidina (200 mcg/kg)+morfina (1 y 2 mg/kg) y una dosis total de alfaxalona de 10 mg/kg. Por otro lado, combinaciones estudiadas por Henke et al. (2005) como medetomidina y ketamina, medetomidina junto a fentanilo y midazolam o xilacina y ketamina, mostraron PaCO<sub>2</sub> de 50±5, 52±6.5 y 43±5 respectivamente, evidenciando efectos aún más depresores sobre la ventilación al introducir

más fármacos en la combinación. La ETCO<sub>2</sub> de nuestro estudio, por su parte, se relaciona con los registros obtenidos por Grint et al. (2008), quienes tras administrar buprenorfina, indujeron anestesia con alfaxalona a dosis de 2 y 3 mg/kg, encontrando valores en la capnografía de 43±8 y de 45 ±12 mmHg respectivamente.

En el caso de la saturación de hemoglobina se observaron diferencias significativas solo en el minuto 60, siendo más baja en el grupo DMAMa. Por su parte la PaO<sub>2</sub>, mostró diferencias estadísticamente significativas en el minuto 60 y 90 de la experiencia, igualmente notándose más baja en el grupo DMAMa. Esta diferencia podría estar relacionada quizás con la rapidez en el inicio de acción en el grupo DMAVa de la alfaxalona intravenosa, donde los efectos son inmediatos, y la regresión a los valores basales se muestra con más prontitud. Algunos estudios demuestran que la disminución de la frecuencia respiratoria en conejos está relacionada con depresión ventilatoria (Flecknell et al., 1983; Flecknell et al., 1989). En los primeros 30 minutos, en el grupo DMAMa se observaron valores medios ligeramente por debajo del 90 % de saturación de oxígeno, y en el grupo DMAVa se observaron solo al minuto 10. Por otro lado, la PaO<sub>2</sub> a lo largo de la experiencia registró valores medios ligeramente por encima de 60 mmHg (63±4 en el grupo DMAMa y 68±56 en el grupo DMAVa). Estos valores indican que algunos de los conejos presentaron una hipoxemia moderada básicamente en los primeros minutos de la experiencia (Henke et al., 2005; Kuehn y Gordon 2012; Tutunaru et al., 2013). Combinaciones de ketamina y medetomidina o ketamina, medetomidina y buprenorfina, ampliamente utilizadas en conejos, han mostrado valores medios de PaO<sub>2</sub> mucho más bajos que los nuestros (41 y 40 mmHg), catalogándose como hipoxemias graves (Murphy et al., 2010). En nuestro caso, fue necesario el reajuste de las dosis y secuencias de administración tras una experiencia preliminar, ya que en el grupo DMAVa, 2 animales sufrieron una depresión ventilatoria grave que les llevo a la muerte. Tutunaru et al., (2013), en conejos premedicados con fentanyl-droperidol, encontraron serios problemas de hipoxemia relacionados con la administración lenta (1 minuto) de alfaxalona a dosis de 3 mg/kg IV. La

SPO<sub>2</sub> en algunos animales de su experiencia llegó a registrar 42%, y en algunos otros, a pesar de que la SPO<sub>2</sub> no llegó a esos niveles, los animales presentaron apneas importantes y cianosis tal como sucedió en nuestro caso. Estos resultados llevan a concluir que en consonancia a lo recomendado por otros autores, la preoxigenación de los conejos antes de la sedación/anestesia con esta u otras combinaciones resulta recomendable (Grint et al., 2008; Navarrete-Calvo et al., 2014; Tutunaru et al., 2013).

Estudios en humana y en veterinaria han demostrado que la dilución de los anestésicos inyectables y el enlentecimiento en la velocidad de administración de los mismos, genera una reducción de la dosis requerida y de la incidencia de efectos adversos cardiovasculares y ventilatorios (Zaki et al., 2009; Kazama et al., 2000). Por tanto, en la modificación de la experiencia clínico/anestésica en el grupo DMAVa, tras lo ocurrido en el estudio preliminar, se optó por enlentecer la velocidad de administración de la alfaxalona pero sin variar la dosis establecida. Esto se llevó a cabo mediante la dilución del volumen total calculado en solución salina para una administración más paulatina, realizándola en 2 minutos en vez de 1 minuto, que era como se había planificado inicialmente. Esta velocidad de administración de la alfaxalona es similar a la empleada por Andaluz et al. (2012), quienes la usaron para la inducción de ovejas sin encontrar problemas relacionados con hipoxia por apnea. Las recomendaciones de cara a la inducción con alfaxalona son una administración lenta endovenosa; sin embargo, no está establecida cual es la velocidad más adecuada. Nuestra pauta de administración resultó adecuada de cara a evitar los problemas surgidos en la experiencia preliminar, lo cual lleva a pensar que una administración a lo largo de 2 minutos resulta recomendable en conejos. Al igual que con otros tipos de premedicación anestésica (Grint et al., 2008; Tutunaru et al., 2013; Navarrete-Calvo et al., 2014) en nuestra experiencia se observó claramente una reducción de los requerimientos anestésicos de alfaxalona en conejos, tras la administración de dexmedetomidina. En nuestro estudio FC/FD, la administración de la alfaxalona IV se realizaba a lo largo de 1 minuto, inmediatamente después de la administración de dexmedetomidina IM. Por otro lado, en la

experiencia clínico/anestésica la alfaxalona se administró a lo largo de 2 minutos tras la inyección IM de dexmedetomidina, así como también alfaxalona IM tras 15 minutos de la administración previa de dexmedetomidina IM. Estas pautas de administración no fueron relacionadas con accidentes anestésicos, aunque la depresión ventilatoria fue evidente, dada la hipoxemia moderada recogida por los valores de PaO<sub>2</sub>. Esto nos lleva a postular que el hecho de administrar la dexmedetomidina como premedicación (ej: 15 minutos previamente) reduce considerablemente las dosis de alfaxalona IV, debiendo ser tenido en cuenta para evitar accidentes.

Las variaciones en los parámetros encaminados a valorar el equilibrio ácido-base metabólico tales como el pH, el HCO<sub>3</sub> y el ABE en los conejos suele ser complejo. Esto se debe a que los valores basales pueden verse alterados en función del tipo de alimentación, del estrés generado por la manipulación, del ayuno, y del mismo tracto gastrointestinal de los conejos (Benato et al. 2013). Así pues, generalmente en el análisis de los gases arteriales en las diferentes publicaciones se le da una importancia prioritaria a la PaO<sub>2</sub>, a la PaCO<sub>2</sub> y parcialmente al pH (Henke et al., 2005; Allwiller et al., 2010; Benato et al., 2013; Dziki et al., 2014). En nuestra experiencia no existieron diferencias estadísticamente significativas en estos parámetros. Los valores de pH, aunque variable en los dos grupos, se mantuvieron dentro de lo considerado como normal (7,35-7,45) a lo largo de los 90 minutos de la experiencia. La disminución rápida aunque sutil en el grupo DMAVa, se justifica tras la caída de la frecuencia respiratoria debido a la administración de la alfaxalona intravenosa, con la subsecuente hipoventilación y aumento de la PaCO<sub>2</sub>. En el grupo DMAMa el comportamiento siempre fue decreciente, debido a la previa disminución de la frecuencia respiratoria tras la administración de dexmedetomidina, y la posterior potenciación del efecto bradipnéico debido a la administración de alfaxalona. Igualmente, el aumento del HCO<sub>3</sub> y en el exceso de bases (ABE), son efectos compensatorios que se esperan como respuesta a la hipoventilación encontrada en ambos grupos. Como ya se ha comentado, la variabilidad en los valores basales del ABE en nuestra experiencia

concuerdan con lo expuesto por Benato et al. (2013). Estos autores documentaron grandes fluctuaciones en el ABE, llevándoles a pensar que este parámetro se ve alterado por el tipo de animales objeto del estudio y su tipo de dieta, a pesar de que en nuestro caso todos los animales fueron alimentados de la misma manera. Muir et al. (2009) en gatos, no encontró alteraciones ni en el pH, ni en el bicarbonato, y únicamente observó alteraciones en el pH a dosis de alfaxalona extremadamente elevadas (50 mg/kg). En un estudio realizado por Quirós et al. (2014), en perros anestesiados mediante infusión continua con dexmedetomidina y alfaxalona, mostró una ligera disminución del pH, probablemente como producto de la depresión respiratoria. Así mismo Muir et al. (2008) describieron como insignificante la disminución del pH a dosis supraclínicas en perros anestesiados con alfaxalona, que no se acompañó de alteraciones en el exceso de bases.

La temperatura corporal no evidenció diferencias estadísticamente significativas. A lo largo de la experiencia clínico/anestésica, en general tuvo una tendencia decreciente de manera sutil. En el grupo DMAVa se observó un ligero aumento durante los primeros 10 minutos posteriores a la administración de la alfaxalona, seguido de un descenso paulatino, sin ninguna explicación aparente. Podría pensarse que el posicionamiento del termómetro digital rectal no se encontraba colocado correctamente en alguno de los conejos y esto haya podido enmascarar la evolución de la temperatura, aunque no se debe descartar algún mecanismo intrínseco de la alfaxalona, una vez ingresa al torrente sanguíneo. Por el contrario, en el grupo DMAMa el comportamiento de la temperatura siempre fue decreciente, lo cual resulta una evolución lógica dada la inactividad de los animales. Si se tiene en cuenta que la temperatura normal en los conejos no debería ser inferior a 37,2 °C (Gendron K, 2000), podemos concluir que en nuestra experiencia clínico/anestésica de 90 minutos de duración, no se llegó a desarrollar una hipotermia. De igual forma, la reversión de la dexmedetomidina con atipamezol supone un beneficio a la hora de que estos animales recuperen la movilidad más rápidamente y de esta forma comiencen a generar calor. En un estudio realizado por Bellini et al. (2014),

comparando la sedación de conejos mascota con dexmedetomidina y midazolam vs. ketamina y midazolam, observaron un mayor descenso en la temperatura corporal en el grupo que incluía dexmedetomidina. Sus resultados muestran una mayor duración de la sedación en aquellos conejos sedados con dexmedetomidina que en los del grupo ketamina, argumentando que estos animales perdieron más calor al permanecer un mayor tiempo sedados. Los agonistas alfa-2 adrenérgicos proveen una sedación profunda, generando inmovilidad y por lo tanto un descenso en la actividad muscular que lleva a la hipotermia. Sin embargo, la vasoconstricción periférica que inducen ayuda a contrarrestar parcialmente la pérdida de calor corporal. Por otro lado la alfaxalona además de inmovilidad promueve la vasodilatación. Aquellos fármacos con actividad vasodilatadora como es el caso de la alfaxalona o la acepromacina (Valverde, 2004), facilitan más la pérdida de calor por el incremento de la circulación periférica que promueven. Es por tanto probable que la combinación de dexmedetomidina con alfaxalona genere una pérdida de calor superior a la obtenida tras la administración individual de dexmedetomidina. Bakker et al., (2013) encontraron hipotermia en monos títes anestesiados con alfaxalona; sin embargo, no observaron diferencias cuando fueron anestesiados con combinaciones de ketamina y medetomidina. Es posible que la ausencia de diferencias en este estudio se deba al tamaño de los animales, ya que son los animales más pequeños los que se encuentran más predispuestos al desarrollo de hipotermias debido a su mayor superficie corporal. En cualquier caso, una premisa clara es que el empleo de combinaciones sedantes o anestésicas que permitan antagonizar sus efectos, permitirán recuperaciones más rápidas, promoviendo la movilidad de los animales y disminuyendo así la pérdida de calor.

La calidad de la recuperación de todos los animales en ambas experiencias fue excelente, obteniendo siempre recuperaciones suaves, paulatinas y confortables. En la experiencia FC/FD el descenso en el grado de sedación fue paulatino en todos los grupos. Los grupos alfaxalona sola manifestaron efectos sedantes hasta el minuto 90 y 100 por vía IV e IM respectivamente. En los grupos

con dexmedetomidina se consideró que los efectos sedantes de los fármacos permanecieron hasta el minuto 280 y 310 en el grupo DMAVf y grupo DMAMf respectivamente. En la experiencia clínico/anestésica, no se determinó hasta qué momento se observan efectos sedantes con estos protocolos, debido a la reversión de los efectos de la dexmedetomidina con atipamezol al minuto 90. En esta experiencia tras la reversión, la calidad de la recuperación fue excelente para ambos grupos. Nuestros resultados coinciden con los obtenidos por Huynh et al. (2015), en el caso de las recuperaciones tras la administración de alfaxalona sola por vía IM y Marsh et al. (2009), Grint et al. (2008) y Navarrete-Calvo et al. (2014) por vía IV con diferentes combinaciones. En la especie felina el empleo de alfaxalona se ha asociado a recuperaciones de peor calidad, recogándose en muchos casos hiperreactividad (Grubb et al., 2013), vómitos e hiperquinesia (Rodrigo-Mocholí et al., 2015), aún cuando la alfaxalona se combina con otros agentes, entre ellos dexmedetomidina. En perros, tras la administración de alfaxalona sola por vía IM se han observado temores musculares, extensión de miembros, pedaleo y vocalizaciones en la recuperación (Tamura et al., 2015; Jiménez et al., 2012).

Los efectos adversos destacables en la experiencia FC/FD, consistieron fundamentalmente en el nistagmo vertical como respuesta a los estímulos nociceptivos cuando el animal estaba profundamente sedado y vocalización en forma de chillido como respuesta al clampado cuando la sedación era suave o moderada. En algunos animales también se observó nistagmo vertical u horizontal de manera involuntaria, sin alguna explicación aparente. El nistagmo se ha observado con cierta frecuencia como efecto adverso asociado a la administración de ketamina, como consecuencia de la actividad excitatoria que ésta presenta sobre el sistema nervioso central (Dellepiane et al., 2007). También se observó micción en el periodo de recuperación en 1 animal de cada grupo donde se combinó dexmedetomidina y alfaxalona, debido probablemente al largo periodo de sedación obtenido, sumado al aumento de la diuresis estimulado por los agonistas alfa-2 (Seymour y Gleed, 1999). Se observaron temblores en 1 animal de cada grupo donde se administró alfaxalona sola (IM e IV) en el paso del decúbito lateral a la posición esternal. Esta sintomatología adversa se asoció al grado de sedación residual que todavía exhibían los animales,

y no tanto a una hipotermia ya que los temblores desaparecieron tan pronto como el animal adquirió el decubito esternal y se encontró cómodo. Por otro lado, 1 animal perteneciente al grupo DMAMf presentó arritmia, que se asoció a la administración de agonistas alfa-2 (Gross et al., 1990; Salmenpera et al., 1994); como en la experiencia FC/FD no se utilizó electrocardiograma para la monitorización, la arritmia registrada se obtuvo mediante auscultación cardíaca, y por tanto no fue posible determinar su origen. En la experiencia clínico/anestésica, además del nistagmo en 1 animal del grupo DMAMa se presentó un ligero movimiento involuntario de los miembros anteriores. En otro animal del mismo grupo, se observaron mucosas cianóticas a los 5 minutos de la administración de la alfaxalona, que desapareció a los pocos minutos. La cianosis en este animal estuvo directamente relacionada con hipoxemia severa e hipercapnia, producto de su drástica disminución de la frecuencia respiratoria. Estos problemas, aunque de corta duración en muchos casos, pueden esperarse dado que el efecto adverso más notorio de la alfaxalona es la aparición de apnea, como ya se ha demostrado en otras especies (Muir et al., 2008, 2009; Granados et al., 2012; Morgaz et al. 2012).

## **6 CONCLUSIONES**



1. La farmacocinética de Alfaxalona administrada por vía intravenosa a la dosis de 5 mg/kg se caracteriza por alcanzar un volumen de distribución elevado ( $V_z = 3.5$  L/kg), una depuración plasmática rápida (1.55 L/kg/h) y consecuentemente una vida media corta (1.6 h). Tras la administración IM el proceso de absorción es rápido ya que en 14 minutos se alcanza la concentración plasmática máxima de 2.1 mg/L y la biodisponibilidad es elevada y equivalente a la administración IV del fármaco.
2. La farmacocinética de Alfaxalona administrada por vía IV a la dosis de 5 mg/kg combinada con una inyección IM de dexmedetomidina a dosis de 0.1 mg/kg se caracteriza por alcanzar un volumen de distribución elevado ( $V_z = 5.0$  L/kg) y una depuración plasmática rápida (1.46 L/kg/h) similares a los obtenidos tras la aplicación única, sin embargo presenta una vida media significativamente más prolongada (2.17 h). Tras la administración IM de la combinación, el proceso de absorción es también rápido pues en 10 minutos se alcanza la concentración plasmática máxima de 1.6 mg/L y la biodisponibilidad es elevada y equivalente a la administración IV del fármaco; sin embargo, el tiempo medio de residencia fue significativamente más prolongado (2.6 h) tras esta vía extravascular.
3. El nivel de sedación tras la administración de Alfaxalona por vía IM o IV logra ser moderado, pudiendo ser adecuado para procedimientos sin presencia de dolor. De otro lado, el efecto sedante es superior cuando la Alfaxalona IM o IV, se asocia con la inyección intramuscular de Dexmedetomidina a las dosis estudiadas, logrando sedaciones profundas que podrían permitir la realización de procedimientos con un estímulo nociceptivo de suave a moderada intensidad.
4. Las recuperaciones fueron de igual calidad tanto con la Alfaxalona sola (IM o IV), como con la combinación Dexmedetomidina/Alfaxalona. En ambos casos, fueron tranquilas, paulatinas, confortables y sin eventualidades. La duración del efecto sedante fue significativamente más prolongado cuando se asoció Dexmedetomidina con Alfaxalona; de

esta manera, la antagonización del efecto de la Dexmedetomidina con Atipamezol, constituye una buena alternativa de cara a promover recuperaciones más rápidas en esta especie.

5. La administración de la Alfaxalona sola mantuvo la frecuencia cardiaca de forma estable en conejos. Por el contrario, al asociarse con Dexmedetomidina a las dosis usadas, produjo disminución de la frecuencia cardiaca y la presión arterial en esta especie, sin llegar a considerarse como una hipotensión peligrosa.
6. A las dosis usadas, la frecuencia respiratoria se redujo tras la administración de Alfaxalona sola (IM o IV), así como cuando se asoció con Dexmedetomidina, donde el efecto fue más evidente. Los efectos sobre la oxigenación y la ventilación al asociarse Dexmedetomidina con Alfaxalona, se tradujeron en hipoxemia moderada. La depresión ventilatoria tras la administración de Alfaxalona IV en esta especie, resulta de menor entidad si se administra de forma lenta.
7. Los efectos adversos tras la administración de Alfaxalona sola o combinada en el conejo son escasos, siendo la bradipnea y el nistagmo involuntario los más representativos.
8. La administración IM de Alfaxalona sola constituye una alternativa válida para la consecución de sedaciones moderadas, óptimas para procedimientos exentos de dolor. Entre tanto, la administración IM de Alfaxalona combinada con dexmedetomidina provee sedaciones profundas, útiles para procedimientos con dolor suave o moderado, con una duración más prolongada debido a un mayor tiempo de residencia de la Alfaxalona, dada su interferencia con la Dexmedetomidina a nivel de metabolismo y/o eliminación de ambos fármacos.

## 7 RESUMEN



El objetivo de la presente tesis ha sido estudiar la farmacocinética y la farmacodinamia de la Alfaxalona sola o en asociación con Dexmedetomidina en conejos, analizando los efectos cardiorrespiratorios y adversos, conjuntamente con la evaluación de la calidad de la sedación y la recuperación. Así mismo, se ha estudiado la vía de administración intramuscular de Alfaxalona sola o en combinación con Dexmedetomidina, como alternativa a la vía intravenosa, para la consecución de una sedación o anestesia estable en esta especie.

Para este trabajo se utilizaron 5 conejos hembras de raza Nueva Zelanda, y se diseñaron 2 experiencias. La primera experiencia se denominó “*Experiencia farmacocinética/farmacodinámica (FC/FD)*”, cuyo objetivo era la determinación de la farmacocinética y la farmacodinamia de la alfaxalona en conejos, tras su administración sola o en combinación con dexmedetomidina. Para esta experiencia se conformaron 4 grupos (n=5): Grupo 1: AMf (Alfaxalona intramuscular); Grupo 2: AVf (Alfaxalona intravenosa); Grupo 3: DMAMf (Dexmedetomidina intramuscular + Alfaxalona intramuscular); Grupo 4: DMAVf (Dexmedetomidina intramuscular + Alfaxalona intravenosa). La segunda experiencia se denominó “*Experiencia clínico/anestésica*”, en la que se pretendió dar un enfoque clínico práctico, dando especial importancia a la monitorización anestésica. Para esta experiencia se conformaron 2 grupos (n=5): Grupo 1: DMAMa (Dexmedetomidina intramuscular + Alfaxalona intramuscular); Grupo 2: DMAVf (Dexmedetomidina intramuscular + Alfaxalona intravenosa). La dosis usada de Alfaxalona fue de 5 mg/kg y de Dexmedetomidina 0,1 mg/kg, en las 2 experiencias.

En la **experiencia farmacocinética/farmacodinámica**, tras el registro de los parámetros fisiológicos basales, se tomaron muestras de sangre para las determinaciones farmacocinéticas antes de la administración de la alfaxalona (tiempo cero o basal) y posterior a ella, a los 2, 4, 6, 8, 10, 15, 30, 45, 60, 120, 240, 360 y 480 minutos en los 4 grupos. Entre tanto se realizó el registro de la frecuencia cardíaca y respiratoria, y se evaluaron los distintos parámetros encaminados a la valoración de la sedación: postura espontánea, tono muscular, respuesta al ruido, analgesia digital, analgesia auricular y anestesia

quirúrgica. En la recuperación, se registró el tiempo en que los animales retornaron al decúbito esternal y a la postura en pie, así como también se calificó la calidad de la recuperación. La metodología de la administración de los fármacos fue: Grupo AMf: inyección intramuscular de Alfaxalona; Grupo AVf: inyección intravenosa de Alfaxalona durante 1 minuto; Grupo DMAMf: inyección intramuscular de Alfaxalona inmediatamente después de la inyección intramuscular de Dexmedetomidina; Grupo DMAVf: inyección intravenosa de Alfaxalona durante 1 minuto, inmediatamente después de la inyección intramuscular de Dexmedetomidina.

En la **experiencia clínico/anestésica**, tras el registro de los parámetros fisiológicos basales, se extrajo sangre arterial para el análisis gasométrico basal, y a los 10, 30, 60 y 90 minutos posteriores a la administración de la alfaxalona. Una vez que los animales llegaban al decúbito lateral tras la administración de los fármacos, se instauraba la monitorización completa mediante electrocardiografía, pulsioximetría y capnografía; además, la presión arterial se midió de forma directa (invasiva) a través del cateterismo arterial. Así mismo, se evaluaron los distintos parámetros para valorar la sedación: postura espontánea, tono muscular, respuesta al ruido, analgesia digital, analgesia auricular y anestesia quirúrgica. A los 90 minutos posteriores a la administración de Alfaxalona, se administró Atipamezol por vía intramuscular, para revertir los efectos de la Dexmedetomidina; posteriormente, se calificó la calidad de la recuperación. La metodología de la administración de los fármacos fue: Grupo DMAMa: inyección intramuscular de Alfaxalona 15 minutos posteriores a la inyección intramuscular de Dexmedetomidina; Grupo DMAVa: inyección intravenosa de Alfaxalona durante 2 minutos, inmediatamente después de la inyección intramuscular de Dexmedetomidina.

Las concentraciones de alfaxalona en plasma fueron determinadas mediante un método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) modificado del descrito por Visser et al. (2000). Los parámetros no compartimentales se calcularon de acuerdo con la teoría de los momentos estadísticos (Gibaldi y Perrier, 1982), utilizando el programa informático WinNonlin Professional® (versión 5.0).

En la experiencia farmacocinética/farmacodinámica, para verificar la homogeneidad de las distintas concentraciones obtenidas para cada tiempo de extracción, se ha utilizado el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV mediante el cual se comprobó el ajuste de dichas concentraciones a la distribución normal. También se utilizó esta prueba para verificar la existencia o no de diferencias entre los valores de los distintos parámetros farmacocinéticos obtenidos para un mismo modelo de ajuste, considerando ambas vías de administración de alfaxalona. Las diferencias existentes entre las curvas farmacocinéticas, correspondientes a una misma vía de administración se determinaron con el test de correlación de Pearson. Para detectar las diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros farmacocinéticos obtenidos entre las distintas vías de administración se usó test t-student para métodos paramétricos, y para métodos no paramétricos, test de Wilcoxon.

Para la edición y análisis de los datos obtenidos se utilizó el paquete estadístico IBM SPSS Statistic 21 (SPSS Inc., Chicago, IL). Se realizó un ANOVA de una vía para el análisis de los parámetros de tipo cuantitativo. Cuando el ANOVA reveló diferencias significativas entre grupos, se realizó un test post-hoc de Tukey, que se consideró significativo para  $p \leq 0,05$ . El análisis de los parámetros cualitativos de ambas experiencias se realizó por medio de un Kruskal-Wallis. Cuando este test resultó estadísticamente significativo ( $p \leq 0,05$ ) se realizaron comparaciones dos a dos por medio de la U de Mann-Whitney para dos muestras independientes. Todos los datos de ambas experiencias se expresan como media  $\pm$  desviación típica ( $X \pm SD$ ).

La farmacocinética de la Alfaxalona administrada por vía intravenosa a la dosis de 5 mg/kg se caracterizó por alcanzar un volumen de distribución elevado, una depuración plasmática rápida y consecuentemente una vida media corta (1.6 h). Tras la administración IM, el proceso de absorción es rápido ya que en 14 minutos se alcanza la concentración plasmática máxima y la biodisponibilidad es elevada y equivalente a la administración IV del fármaco.

La farmacocinética de la Alfaxalona administrada por vía IV a la dosis de 5 mg/kg combinada con una inyección IM de dexmedetomidina a dosis de 0.1 mg/kg, se caracteriza por alcanzar un volumen de distribución elevado y una depuración plasmática rápida, similares a los obtenidos tras la aplicación única, sin embargo presenta una vida media significativamente más prolongada (2.17 h). Tras la administración IM de la combinación, el proceso de absorción es también rápido, alcanzando en 10 minutos la concentración plasmática máxima de 1.6 mg/L, siendo la biodisponibilidad elevada y equivalente a la administración IV del fármaco; sin embargo, el tiempo medio de residencia fue significativamente más prolongado (2.6 h) tras esta vía extravascular.

En la experiencia farmacocinética/farmacodinámica (FC/FD), la administración aislada de Alfaxalona IM o IV a dosis de 5 mg/kg no logra proveer un grado de sedación profunda, aunque sí grados de sedación suave y moderada; todos los animales de los grupos AMf y AVf lograron el decúbito lateral sin capacidad para levantarse, aunque la reducción del tono muscular, la ausencia de respuesta frente al ruido y a los estímulos nociceptivos fue bastante pobre. Por el contrario, la combinación de Alfaxalona en combinación con Dexmedetomidina (grupos DMAMf y DMAMf), logró otorgar sedaciones profundas en todos los animales, manifestándose mediante el decúbito lateral sin capacidad para levantarse, junto a un grado de analgesia, ausencia de respuesta al ruido y disminución del tono muscular notorios. Las recuperaciones fueron tranquilas, paulatinas y sin eventualidades en los 4 grupos, siendo significativamente más lentas en los grupos donde se asoció Dexmedetomidina con Alfaxalona. Entre tanto, la administración de Alfaxalona IM e IV no supuso diferencias en los tiempos de recuperación, así como tampoco entre los grupos donde se combinó Dexmedetomidina con Alfaxalona.

La administración de Alfaxalona por vía IM o IV no disminuye la frecuencia cardíaca, lo que sí ocurrió en los grupos en los que se combinó con Dexmedetomidina, mostrando diferencias significativas; entre los grupos de la combinación no existieron diferencias significativas. La disminución de la frecuencia respiratoria ocurrió en los 4 grupos, descendiendo de una forma similar, encontrando algunas diferencias entre los grupos a lo largo de la

experiencia. El descenso es más imponente tras la administración IV de Alfaxalona sola o combinada, a pesar de que posteriormente se estabiliza de la misma forma en todos los grupos.

En la experiencia clínico/anestésica, las sedaciones aunque no fueron estadísticamente diferentes, clínicamente se observaron de mejor calidad en el grupo DMAMa, logrando que algunos animales alcanzaran sedaciones profundas. Entre tanto, la administración lenta durante 2 minutos de Alfaxalona IV justo después de la inyección IM de Dexmedetomidina, supuso que los animales no logran sedaciones profundas; sin embargo, a favor de esta metodología de administración de la Alfaxalona, está el menor riesgo de fatalidad inducida por apnea, lo cual puede ocurrir como resultado de la administración de Alfaxalona IV, previo efecto de la premedicación (ej: Dexmedetomidina 15 minutos antes). En otras palabras, el efecto de la premedicación con Dexmedetomidina u otros fármacos preanestésicos podría reducir la dosis IV de Alfaxalona, siendo recomendable su administración de forma lenta y a efecto, durante al menos 2 minutos.

No existieron diferencias entre los grupos con respecto a la temperatura corporal, y tampoco se registraron valores relacionados con hipotermia, a pesar de notarse un descenso paulatino a lo largo de la experiencia. La frecuencia cardíaca disminuyó en ambos grupos, aunque existieron diferencias significativas a lo largo de toda la experiencia. El efecto inmediato de la Alfaxalona IV puede amortiguar en parte los efectos bradicardizantes que poco a poco se van manifestando tras la inyección IM de Dexmedetomidina, y esto puede explicar que en el grupo DMAVa la frecuencia cardíaca descendiera de un modo más atenuado. La presión arterial en los conejos disminuye tras la administración de Dexmedetomidina y puede ser potenciada por la ligera vasodilatación mediada por la Alfaxalona, sin que se hayan registrado valores relacionados con hipotensión. La frecuencia respiratoria desciende tras la administración IM de Dexmedetomidina, y se potencia tras la administración IM de Alfaxalona. El efecto es significativamente más notorio que cuando se administra Alfaxalona IV inmediatamente después de la inyección IM de Dexmedetomidina. La disminución de la frecuencia respiratoria en ambos

grupos estuvo íntimamente relacionada con hipoxemia moderada, aunque sin cambios aparentes sobre los niveles de CO<sub>2</sub> arteriales e inspirados. Los niveles de pH en sangre arterial se mantuvieron dentro de los niveles normales, y el bicarbonato y el exceso de bases arteriales (ABE) ascendieron, conforme a la depresión respiratoria.

En conclusión, la biodisponibilidad de la Alfaxalona administrada de forma aislada por vía IM, es similar a la obtenida por vía IV, evidenciando procesos de absorción rápidos con vidas medias cortas. Tras la administración IM de Alfaxalona combinada con Dexmedetomidina, el proceso de absorción también es rápido, con una biodisponibilidad elevada y equivalente a la administración IV del fármaco, aunque con tiempos medios de residencia significativamente más prolongados. Por tanto, la administración IM o IV de Alfaxalona sola constituye una alternativa para la consecución de sedaciones moderadas, en casos de procedimientos exentos de dolor, con escasos efectos sobre el sistema cardiovascular, aunque con moderada depresión respiratoria. Por su parte, la administración IM de Alfaxalona combinada con dexmedetomidina provee sedaciones profundas, útiles para procedimientos con dolor suave o moderado, con una duración prolongada debido a un mayor tiempo de residencia de la Alfaxalona, dada su interferencia con la Dexmedetomidina a nivel de metabolismo y/o eliminación de los dos fármacos; los efectos de esta combinación deprimen la frecuencia cardíaca y respiratoria, sin llegar a mostarse peligrosa. Por otro lado, la premedicación con Dexmedetomidina IM es segura si se acompaña de la posterior administración IM de Alfaxalona, aunque por vía IV, la dosis de Alfaxalona podría reducirse, siendo recomendable que la inducción se realice de forma lenta y a efecto, dados los efectos depresores sobre la oxigenación y la ventilación.

## **8 SUMMARY**



The aim of this thesis was to study the pharmacokinetics and pharmacodynamics of Alfaxalone alone or in combination with Dexmedetomidine in rabbits, analyzing cardiorespiratory effects and adverse effects, as well as the evaluation of the quality of sedation and recovery. Also, the study of the intramuscular route (IM) for Alfaxalone, alone or combined with Dexmedetomidine, as an alternative to the intravenous route (IV), to achieve a stable sedation or anesthesia in this specie.

Five New Zealand female rabbits were used, and 2 experiences were designed. The first experience was called “Pharmacokinetic/pharmacodynamics (PK/PD) experience”, and its aim was to determine the pharmacokinetic and pharmacodynamics of alfaxalone in rabbits, used alone or combined with dexmedetomidine. For this experience 4 groups were created (n=5): Group 1: AMf (IM Alfaxalone); Group 2: AVf (IV Alfaxalone); Group 3: DMAMf (IM Dexmedetomidine + IM Alfaxalone); Group 4: DMAVf (IM Dexmedetomidine + IV Alfaxalone). The second experience was called “*Clinical/anesthetic experience*”, which aimed for a practical clinical approach, giving primary importance to the anesthetic monitoring. For this experience 2 groups were created (n=5): Group 1: DMAMa (IM Dexmedetomidine + IM Alfaxalone); Group 2: DMAVf (IM Dexmedetomidine + IV Alfaxalone). The administered dose of Alfaxalone was 5 mg/kg and Dexmedetomidine 0,1mg/kg, in both experiences.

In the **pharmacokinetic/pharmacodynamics experience**, after recording the basal physiological parameters, blood samples were taken for the pharmacokinetic determinations prior administration of alfaxalone (time 0 or basal) and after that, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 30, 45, 60, 120, 240, 360 and 480 minutes subsequently in all of the 4 groups. Meanwhile, heart and respiratory rates were registered, and the different parameters to value the sedation were evaluated: spontaneous posture, muscular tone, noise response, digital analgesia, auricular analgesia and surgical anesthesia.

During recovery, the time for the animals to return to sternal recumbency, and foot stance was registered, and the recovery quality was rated. The

method used for drug administration was: Group AMf: IM injection of alfaxalone; Group AVf: IV injection of alfaxalone for 1 minute; Group DMAMf: IM injection of alfaxalone just after the IM injection of dexmedetomidine; Group DMAVf: IV injection of alfaxalone for 1 minute, just after the IM injection of dexmedetomidine.

In the **clinical/anesthetic experience**, after recording the physiologic basal parameters, arterial blood samples were taken to analyze the basal arterial blood gases, and also, samples were taken 10, 30, 60 and 90 minutes after the administration of alfaxalone. Once the animals were in lateral recumbency due to the administration of the drugs, complete monitoring was set through electrocardiography, pulse oximetry, capnography and arterial gas analysis; arterial blood pressure was monitored directly (invasive). Also, the different parameters to value the sedation were evaluated: spontaneous posture, muscular tone, noise response, digital analgesia, auricular analgesia and surgical anesthesia. 90 minutes after the administration of alfaxalone, an IM dose of atipamezole was administered, to revert the dexmedetomidine effects; recovery quality was rated after that. The method used for drug administration was: Group DMAMa: IM injection of alfaxalone 15 minutes after the IM injection of dexmedetomidine; Group DMAVa: IV injection of alfaxalone for 2 minutes, just after the IM injection of dexmedetomidine.

Plasma concentrations of alfaxalone were determined by a High-performance liquid chromatography (HPLC) method modifying the method described by Visser et al. (2000). The non-compartmental parameters were measured based on the statistical moments Theory (Gibaldi & Perrier, 1982), using the WinNonlin<sup>®</sup> Professional software (version 5.0).

In the PK/PD experience, the KOLMOGOROV-SMIRNOV test was used to verify the homogeneity of the different concentrations obtained for each extraction time, and that test showed how the concentrations are adjusted to the normal distribution. Also, this test was used to verify the existence or not of differences between the values of the dissimilar pharmacokinetic

parameters obtained for the same adjust level, considering both routes of administration of alfaxalone. The dissimilarity existent between the pharmacokinetic curves, belonging to each route of administration were determined with Pearson's correlation test. To detect statistically significant differences between the pharmacokinetic parameters obtained in the different routes of administration the t-student test was used for parametric methods, and the Wilcoxon test was used for the non-parametric methods.

For the edition and analysis of the obtained data the IBM SPSS Statistic 21 software (SPSS Inc., Chicago, IL) was used. A one-way ANOVA test was used for the quantitative analysis. When ANOVA showed significant differences between groups, Tukey's post-hoc test was used,  $p \leq 0,05$  was considered significant. The qualitative parameters from both experiences were analyzed using Kruskal-Wallis test. When this test resulted statistically significant ( $p \leq 0,05$ ), two by two comparison were made using the Mann-Whitney U test for two independent samples. All the data from both experiences are presented as mean  $\pm$  standard deviation ( $X \pm SD$ ).

The pharmacokinetics of the alfaxalone administered intravenous at a 5 mg/kg dose was characterized for having a high distribution volume, a fast plasmatic depuration and consequently a short half-life (1.6h). After the IM administration, the absorption process is fast and reaches maximum plasmatic concentration and high bioavailability and equivalent to the IV administration of the drug.

The pharmacokinetics of the alfaxalone administered via IV at a 5 mg/kg dose combined with a IM injection of dexmedetomidine at a 0.1 mg/kg dose, is characterized for reaching a high distribution volume and a fast plasmatic depuration, similar to the application of alfaxalone alone, however it presents a significantly prolonged half-life (2.17 h). After the IM administration of the combination, the absorption process is also fast, reaching a maximum plasmatic concentration of 1.6 mg/L within 10 minutes, with a high bioavailability and equivalent to the IV administration of the drug; however,

the staying mean time was significantly more prolonged (2.6 h) using this route.

In the PK/PD experience, the IV and IM administration of alfaxalone alone at a 5 mg/kg dose didn't provide deep sedation, even though it reached mild and moderate sedation levels; all of the animals in the AMf and AVf groups reached lateral recumbency without the ability of getting on foot stance, but muscular tone reduction, absence of response to noise stimuli and nociceptive stimuli were really poor. On the contrary, the alfaxalone and dexmedetomidine combination (DMAMf and DMAVf groups), provided deep sedation in all of the animals, presenting lateral recumbency with no possibilities of getting on foot stance, with a noticeable level of analgesia, absence of response to noise and decrease of muscular tone. The recovery was quiet, gradual and with no eventualities in the 4 groups, being significantly slower in the groups where alfaxalone and dexmedetomidine were combined. Meanwhile, the IV and IM administration of alfaxalone did not show differences in the recovery times, neither in the groups where alfaxalone and dexmedetomidine were combined.

The IM or IV administration of alfaxalone does not decrease heart rate, it does in the groups in which it was combined with dexmedetomidine, showing significant differences; there was no significant difference among the groups combining the drugs. The respiratory rate decreased in all 4 groups, decreasing in a similar way, showing some differences in all groups through the experience. The decrease of the respiratory rate is more imposing after the IV administration of alfaxalone alone and combined, even though it stabilizes in the same way it does in all the other groups.

In the clinical/anesthetic experience, even though the sedations were not statistically different, clinically it showed better quality in the DMAMa group, with some animals reaching deep sedation. Meanwhile, the slow IV administration of alfaxalone for 2 minutes just after the IM injection of dexmedetomidine, supposed that the animals could not reach deep sedation; however, in favor of this methodology of administration of

alfaxalone, there is a lower mortality risk caused by apnea, which can occur as a result of the IV administration of alfaxalone, due to the previous effect of premedication (e.g.: dexmedetomidine 15 minutes earlier). In other words, the effect of the dexmedetomidine premedication or other pre-anesthetic drugs could reduce the IV dose of alfaxalone, and the administration is recommended to be slow and to effect, for at least 2 minutes.

There is no difference between the groups regarding the body temperature, neither had they registered values related to hypothermia, even though there was a gradual decrease along the experience. The heart rate decreased in both groups, even though there were significant differences along the experience. The immediate effect of the alfaxalone IV could reduce partially the bradycardic inducing effect that slowly manifests after the IM injection of dexmedetomidine, and that explains why the heart rate descended more attenuated in the DMAVa group. The arterial pressure in rabbits decreases after the administration of dexmedetomidine and can be potentiated by a vasodilation mediated by the alfaxalone, with no registered values related to hypotension. The respiratory rate decreases after the IM administration of dexmedetomidine, and is potentiated after the IM administration of alfaxalone IV immediately after the IM injection of dexmedetomidine. The decrease of the respiratory rate in both groups was intimately related to moderated hypoxemia, even though it showed no apparent changes on the arterial and exhaled CO<sub>2</sub> levels. The pH level in arterial blood within normal range, bicarbonate and excess of arterial bases (ABE) ascended, comparable to the respiratory decrease.

In conclusion, the bioavailability of alfaxalone administered alone via IM, is similar to the obtained via IV, evidencing fast absorption processes with short half-life. After the IM administration of alfaxalone combined with dexmedetomidine, the absorption process is also fast, with a high bioavailability and equivalent to the IV administration of the drug, with more prolonged mean residence times. Therefore, the IV and IM administration of alfaxalone alone constitutes an alternative for moderate sedations, in case

of procedures free of pain, with minimal effects on the cardiovascular system, but moderate respiratory decrease. On the other hand, the IM administration of alfaxalone combined with dexmedetomidine provides deep sedations, useful for procedures with low to moderate pain, for a longer period due to prolonged stay of the alfaxalone, caused by interference with the dexmedetomidine to a metabolic level and/or the elimination of both drugs; the effects of this combination decreased heart and respiratory rates, but not to dangerous levels. The premedication with dexmedetomidine IM is secure if combined with the posterior IM administration of alfaxalone, even though, the dose of alfaxalone can be reduced via IV, and is recommended to have a slow and to effect induction, because of the depressor effects that it has on oxygenation and ventilation.

## 9 **BIBLIOGRAFÍA**



Akers MJ. (2002). Excipient–Drug Interactions in Parenteral Formulations. *J Pharm Sci*, 91: 2283–2300.

Allweiler S, Leach MC, Flecknell PA. (2010) The use of propofol and sevoflurane for surgical anaesthesia in New Zealand White rabbits. *Lab Anim*, 44: 113–117.

American College of Veterinary Anesthesiology. (1995) Suggestions for monitoring anesthetized veterinary patients. *J Am Vet Med Assoc*, 206: 936–937.

Andaluz A, Felez-Ocaña N, Santos L, Fresno L, García F. (2012) The effects on cardio-respiratory and acid-base variables of the anaesthetic alfaxalone in a 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (HPCD) formulation in sheep. *Vet J*, 191 (3): 389-392.

Andaluz A, Santos L, García F, Ferrer RI, Fresno L, Moll X. (2013) Maternal and foetal cardiovascular effects of the anaesthetic Alfaxalone in 2-Hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin in the pregnant ewe. *Sci World J*. Article ID 189843.

Ansah OB. (2004) Use of the alpha-2-adrenoceptor agonists medetomidine and dexmedetomidine in the sedation and analgesia of domestic cats. Academic dissertation. Helsinki.

Association of Anaesthetists of Great Britain and Ireland. (2007) Recommendations for standards of monitoring during anaesthesia and recovery (4th edn). Pp 8–9. The Association of Anaesthetists of Great Britain and Ireland, London (UK).

Baggot JD. (1977) Principios de farmacocinética. En: Principios de Farmacología Clínica Veterinaria. Pp 147-193. Ed: Baggot JD. Editorial Acribia S.A., Zaragoza.

Baggot, J.D. y Short, C.R. (1984) Drug disposition in the neonatal animal, with particular reference to the foal. *Equine Vet J*, 16: 361-363

Bekker A, Sturaitis M. (2005) Dexmedetomidine for neurological surgery. *Online Neuro Surgery*, 57: 1-10.

Belelli D, Lambert JJ. (2005) Neurosteroids: endogenous regulators of the GABAA receptor. *Nat Rev Neurosci*, 6:565–575.

Bellini L, Banzato T, Contiero B, Zotti A. (2014) Evaluation of sedation and clinical effects of midazolam with ketamine or dexmedetomidine in pet rabbits. *VetRec*, 175 (15): 372.

Benato L, Chesnel M, Eatwell K, Meredith A. (2013) Arterial blood gas parameters in pet rabbits anaesthetized using a combination of fentanyl-fluanisone-midazolam-isoflurane. *J Small Anim Pract*, 54: 343-346.

Blake DW, Ludbrook J, Van Leeuwen AF. (2000) Dexmedetomidine and haemodynamic responses to acute central hypovolaemia in conscious rabbits. *Clin Exp Pharmacol P*; 27: 801-809.

Bertelsen MF, Sauer CD. (2011) Alfaxalone anaesthesia in the green iguana (*Iguana iguana*). *Vet Anaesth Analg*, 38: 461–466.

Bettschart-Wolfensberger R, Taylor PM, Sear JW, Bloomfield MR, Rentsch K, Dawling S. (1996) Physiological effect of anesthesia induced and maintained by intravenous administration of midazolam-ketamine combination in ponies premedicated with acepromazine and xylazine. *Am J Vet Res*, 57: 1472-1477.

Bonsu O. (2004) Use of the alpha-2 adrenoceptor agonists Medetomidine and Dexmedetomidine in the sedation and analgesia of domestic cats. *AcademicDissertation*. Helsinki.

Booth N. (1988) Agentes Psicotropos. En: Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Pp 363-389. Eds: Booth NH y McDonald LE. Editorial Acribia S.A., Zaragoza.

Borkowsky R, Karas AZ. (1999) Sedation and Anaesthesia of pet rabbits. Clin Tech Small An P, 14 (1): 44-49.

Borowicz KK, Piskorska B, Banach M, Czuczwar SJ. (2011) Neuroprotective actions of neurosteroids. Front Endocrinol, 2; Art 50.

Boström I, Nyman G, Kampa N, Häggström J, Lord P. (2003) Effects of acepromazine on renal function in anesthetized dogs. Am J Vet Res, 64: 590-598.

Brewster ME, Bodor N. (1990) An intravenous toxicity study of 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin, a useful drug solubilizer in rats and monkeys. Int J Pharm, 59: 231–243.

Brodbelt DC, Blissitt KJ, Hammond RA, Neath PJ, Young LE, Pfeiffer DU, Wood JL. (2008) The risk of death: the confidential enquiry into perioperative small animal fatalities. Vet Anaesth Analg, 35: 365–373.

Brown SA. (2003) Farmacocinética y distribución de los fármacos en el organismo. En: Farmacología y Terapéutica Veterinaria (2º ed). Pp 13-56. Ed. Adams HR, Ames, Iowa State University Press, Editorial Acribia S.A., Zaragoza.

Burnside WM, Flecknell PA, Cameron AI, Thomas AA. (2013) A comparison of medetomidine and its active enantiomer dexmedetomidine when administered with ketamine in mice. BMC Vet Res, 9:48.

Carroll GL. (2008) Premedicants. En: Small Animal and Anesthesia and Analgesia (1º ed). Pp 69-82. Ed. Carroll GL. Blackwell Publishing, Iowa.

Cerón Madrigal JJ. (2015) Análisis Clínicos en Pequeños Animales. Editorial Inter-Médica. Argentina.

Child KJ, Currie JP, Dis B. Dodds MG, Pearce DR, Twissell DJ. (1971) The pharmacological properties in animals of CT1341- a new steroid anaesthetic agent. Br J Anaesth, 43: 2-13.

De la Barrera H, García H, Avila Z, Vega G. (2006) Dexmedetomidina para anestesia endovenosa en procedimientos vasculares. Rev Col Anest, 34 (4): 273-274.

DiBartola SP. Electrolyte and acid-base disorders. En: Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods (5<sup>a</sup> ed). Pp 112-125. Eds: Willard MD, Tvedten H. Elsevier Saunders, St. Louis.

Dugdale A. (2010) Rabbit anaesthesia. En: Veterinary Anaesthesia: Principles to Practice. Pp 309-311. Ed. Dugdale A. Blackwell publishing Ltd., Oxford.

Dye D, Watkins J. (1980) Suspected anaphylactic reaction to Cremophor EL. Brit Med J. Pp 1353.

Dzikiti TB, Zeiler GE, Dzikiti LN, Garcia ER. (2014) The effects of midazolam and butorphanol, administered alone or combined, on the dose and quality of anaesthetic induction with alfaxalone in goats. J S Afr Vet Assoc, 85 (1): Art. #1047.

Dzikiti TB, Ndawana PS, Zeiler GE, Bester L, Dzikiti LN. (2015) Determination of the minimum infusion rate of alfaxalone during its co-administration with midazolam in goats. Vet Rec Open, 2: 1-8.

Ezquerro LJ, Gil JR. (1992) Neuroleptoanalgesia. En: Anestesia Práctica de Pequeños Animales. Pp 97-105. Eds: Ezquerro Calvo LJ, Vives Vallés MA, Usón Gargallo J. Interamericana Mc-Graw- Hill de España, Madrid.

Ferré PJ, Pasloske K, Whittam T, Ranasinghe MG, Li Q, Lefebvre HP. (2006) Plasma pharmacokinetics of alfaxalone in dogs after an intravenous bolus of Alfaxan-CD RTU. *Vet Anaesth Analg*, 33: 229–236.

Flecknell PA, John M, Mitchell M, Shurey C, Simpkin S. (1983) Neuroleptanalgesia in the rabbit. *Lab Anim*, 17: 104–109.

Flecknell PA, Liles JH, Wootton R. (1989) Reversal of fentanyl–fluanisone neuroleptanalgesia in the rabbit using mixed agonist–antagonist opioids. *Lab Anim*, 23: 147–155.

Flecknell PA. (1996) Anestesia de las especies habituales de laboratorio. En: *Anestesia de animales de laboratorio*. Pp 159-219. Ed: Flecknell PA. Editorial Acribia S.A., Madrid.

Flecknell PA, Liles JH. (1996) Halothane anaesthesia in the rabbit: A comparison of the effects of medetomidine, acepromazine, and midazolam on breath-holding during induction. *J Vet Anaesth*, 23: 11-14.

Flecknell PA. (2006) Anaesthesia and perioperative care. En: *BSAVA Manual of Rabbit Medicine and Surgery* (2ª ed). Pp 154-165. Eds: Meredith A, Flecknell P. BSAVA Press, Gloucester.

Flecknell PA, Richardson CA, Popovic A. (2007) Laboratory animals. En: *Lumb & Jones` Veterinary Anesthesia and Analgesia* (4ª ed). Pp 765-784. Eds: Tranquilli WJ, Thurmon JC, Grimm KA. Blackwell Publishing, Oxford.

Frye CA, Cuevas CA, Kanarek RB. (1993) Diet and estrous cycle influence pain sensitivity in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 45: 255–260.

Gendron K. (2000) Caring for your rabbit. *The Rabbit Handbook*. Pp 21-39. Ed. Gendron K. Barron`s Educational Series Inc., New York.

Gilron I, Coderre TJ. (1996) Preemptive analgesic effects of steroid anesthesia with alfaxalone in the rat formalin test. Evidence for differential GABA(A) receptor modulation in persistent nociception. *Anesthesiology*, 84: 572–579.

Gintzler AR, Liu NJ. (2001) The maternal spinal cord: biochemical and physiological correlates of steroid activated antinociceptive processes. *Prog Brain Res*, 133:83–97.

Gómez-Villamandos R, Palacios C, Benitez A, Granados M, Dominguez J, López I, Ruíz I, Aguilera E, Santisteban J. (2006) Dexmedetomidine or medetomidine premedication before propofol desflurane anaesthesia in dogs. *J Vet Pharmacol Therap*, 29: 157-163.

González AG, Silván G, Villa A, Illera JC. (2012) Heart and respiratory rates and adrenal response to propofol or alfaxalone in rabbits. Short communication. *Vet Rec*, 170: 444.

Goodchild CS, Guo Z, Nadeson R. (2000) Antinociceptive properties of neurosteroids I. Spinally-mediated antinociceptive effects of water-soluble aminosteroids. *Pain*, 88:23–29.

Goodwin WA, Keates HL, Pasloske K, Pearson M, Sauer B, Ranasinghe MG. (2011) The pharmacokinetics and pharmacodynamics of the injectable anaesthetic alfaxalone in the horse. *Vet Anaesth Analg*, 38: 431–438.

Granados MM, Domínguez JM, Fernández-Sarmiento A, Funes FJ, Morgaz J, Navarrete R, Carrillo JM, Rubio M, Muñoz-Rascón P, Gómez de segura IA, Gómez-Villamandos RJ. (2012) Anaesthetic and cardiorespiratory effects of a constant-rate infusion of alfaxalone in desflurane-anaesthetised sheep. *Vet Rec*, 171 (5): 125.

Granhölm M, Mckusick B, Westerholm F, Aspegrén J. (2006) Evaluation of the clinical efficacy and safety of dexmedetomidine or medetomidine in cats and their reversal with atipamezole. *Vet Anaesth Analg*, 33: 214-223.

Green CJ. (1975) Neuroleptanalgesic drug combinations in the anaesthetic management of small laboratory animals. *Lab Anim*, 9: 161-178.

Green CJ, Halsey MJ, Precious S, Wardley-Smith B. (1978) Alphaxolone-alphadolone anaesthesia in laboratory animals. *Lab Anim*, 12: 85-89.

Grint NJ, Smith HE, Senior JM. (2008) Clinical evaluation of alfaxalone in cyclodextrin for the induction of anaesthesia in rabbits. *Vet Rec*, 163: 395-396.

Gross ME, Tranquilli WJ, Thurmon JC. (1990) Hemodynamic effects of intravenous midazolam-xylazine-butorphanol in dogs. *Vet Surg*, 19: 173-180.

Gross ME. (2003) Tranquilizantes, Agonistas  $\alpha$ -2-adrenérgicos y Compuestos Relacionados. En: *Farmacología y Terapéutica Veterinaria* (2ª ed). Pp 315-360. Ed: Adams HR. Editorial Acribia S.A., Madrid.

Grubb TL, Greene SA, Perez TE. (2013) Cardiovascular and respiratory effects, and quality of anesthesia produced by alfaxalone administered intramuscularly to cats sedated with dexmedetomidine and hydromorphone. *J Feline Med Surg*, 15(10): 858–865.

Hall LW, Clarke KW, Trim CM. (2001) Principles of sedation, analgesia and premedication. En: *Veterinary Anesthesia* (10ª ed). Pp 75-112. Eds: Hall LW, Clarke KW, Trim CM. Baillière Tindall, London.

Harvey L, Knowles T, Murison PJ. (2012) Comparison of direct and Doppler arterial blood pressure measurements in rabbits during isoflurane anaesthesia. *Vet Anaesth Analg*, 39: 174–184.

Haskins SC. (2007) Monitoring anesthetized patients. En: Lumb & Jones` Veterinary Anesthesia and Analgesia (4<sup>a</sup> Ed). Pp 533-558. Eds: Tranquilli WJ, Thurmon JC, Grimm KA. Blackwell Publishing, Oxford.

Henke J, Astner S, Brill T, Eissner B, Busch R, Erhardt W. (2005) Comparative study of three intramuscular anaesthetic combinations (medetomidine/ketamine, medetomidine/fentanyl/midazolam and xylazine/ketamine) in rabbits. *Vet Anaesth Analg*, 32: 261–270.

Hird J. The latest induction agent for anaesthesia in the dog and cat. The Hird Consultancy. Supplied by Vétoquinol.

Hudson, R. (1974) Midazolam pharmacokinetics in patients undergoing abdominal aortic surgery. *Anesth Analg*, 79: 219-225.

Hiscox KL. (2012) Dexmedetomidine infusion as an adjunct anesthetic for tetralogy of fallot repair during a pediatric cardiac mission trip in Jamaica: A case report. *AANA J*, 80 (5): 385-391.

Huynh M, Poumeyrol S, PignonCh, Teuff GL, Zilberstein L. (2015) Intramuscular administration of alfaxalone for sedation in rabbits. *Vet Rec*, 176 (10): 255.

Iida H, Iida M, Ohata H, Michino T, Do S. (2006) Effects of dexmedetomidine on cerebral circulation and systemic hemodynamics after cardiopulmonary resuscitation in dogs. *J Anesth*, 20: 202–207.

Jevtovic-Todorovic V, Covey DF, Todorovic SM. (2009) Are neuroactive steroids promising therapeutic agents in the management of acute and chronic pain?. *Psychoneuroendocrino*, 34; S1: S178–S185.

Jiménez CP, Mathis A, Mora SS, Brodbelt D, Alibhai H. (2012) Evaluation of the quality of the recovery after administration of propofol or alfaxalone for induction of anaesthesia in dogs anaesthetized for magnetic resonance imaging. *Vet Anaesth Analg*, 39: 151–159.

Johnston GAR. (1996) GABA<sub>A</sub> Receptor Pharmacology. *Pharmacol Ther*, 69 (3): 173-198.

Jolkkonen J, Puurunen K, Koistinaho J, Kauppinen R, Haapalinna A, Nieminen L, Sivenius J. (1999) Neuroprotection by the alfa-adrenoceptor agonist, dexmedetomidine, in 2 rat focal cerebral ischemia. *Eur J Pharmacol*, 372: 31-36.

Jones KL. (2012) Therapeutic review: Alfaxalone. *J Exot Pet Med*, 21: 347–353.

Karol MD, Maze M. (2000) Pharmacokinetics and interaction pharmacodynamics of dexmedetomidine in humans. *Bailliere Clin Anaes*, 14 (2): 261-269.

Kay N, Sear JW, Uppington J, Cockshott ID, Douglas EJ. (1986) Disposition of propofol in patients undergoing surgery. *Br J Anaesth*, 58: 1075-1079

Kästner SBR. (2007) Intravenous anaesthetics. En: *BSAVA Manual of Canine and Feline Anaesthesia and Analgesia* (2<sup>a</sup> ed). Pp 133-149. Eds: Seymour C, Duke-Novakovski T. British Small Animal Veterinary Association, Gloucester.

Kazama T, Ikeda K, Morita K, Kikura M, Ikeda T, Kurita T, Sato S. (2000) Investigation of effective anesthesia induction doses using a wide range of infusion rates with undiluted and diluted propofol. *Anesthesiology*, 92: 1017–1028.

Keegan RD, Greene SA, Bagley RS, Moore MP, Weil AB, Short CE. (1995) Effects of medetomidine administration on intracranial pressure and cardiovascular variables of isoflurane-anesthetized dogs. *Am J Vet Res*, 56: 193-198.

Khan ZP, Ferguson CN, Jones RM. (1999) Alpha-2 and imidazoline receptor agonists: Their pharmacology and therapeutic role. *Anaesthesia*, 54: 146–165.

Klotz, U. (2009) Pharmacokinetics and drug metabolism in the elderly. *Drug Metab Rev*, 41: 67-76.

Ko J, Payton M, White A, Galloway D, Inoue T. (2006) Effects of intravenous diazepam or microdose medetomidine on propofol-induced sedation in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc*, 42: 18-27.

Kuehn NF, Gordon SG. (2012) Respiratory and cardiac disorders. En: *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. Pp 260-277. Eds: Willard MD, Tvedten H. Elsevier Saunders, St. Louis.

Kuusela E, Raeckallio M, Anttila M, Falck I, Mölsä S, Vainio O. (2000) Clinical effects and pharmacokinetics of medetomidine and its enantiomers in dogs. *J Vet Pharmacol Therap*, 23: 15-20.

Kuusela E., Raeckallio M., Välsänen M., Mykkänen K., Ropponen H, Vainio O. (2001) Comparison of medetomidine and dexmedetomidine as premedicants in dogs undergoing propofol-isoflurane anesthesia. *Am J Vet Res*, 62: 1073–1080.

Kuusela E, Vainio O, Short C, Leppäluoto J, Huttunen P, Ström S, Huju V, Valtonen A, Raekallio M. (2003) A comparison of propofol infusion and propofol/isoflurane anaesthesia in dexmedetomidine premedicated dogs. *J Vet Pharmacol Therap*, 26: 199-204.

Lamont L, Mathews K. Opioids. (2007) Nonsteroidal anti-inflammatories, and analgesic adjuvants. En: Lumb & Jones` Veterinary Anesthesia and Analgesia (4<sup>a</sup> ed). Pp 241-272. Eds: Tranquilli WJ, Thurmon JC, Grimm KA. Blackwell Publishing, Oxford.

Lau C, Ranasinghe MG, Shiels I, Keates H, Pasloske K, Bellingham MC. (2013) Plasma pharmacokinetics of alfaxalone after a single intraperitoneal or intravenous injection of Alfaxan(®) in rats. *J Vet Pharmacol Ther*, 36 (5): 516-20.

Lawrence CJ, De Lange S.(1997) Effects of a single pre-operative dexmedetomidine dose on isoflurane requirements and peri-operative haemodynamic stability. *Anesthesia*, 52: 736-744.

Lemke KA. (2004) Perioperative use of selective alfa-2 agonists and antagonists in small animals. *Can Vet J*, 45: 475-480

Lemke K. (2007) Anticholinergics and sedatives. En: Lumb & Jones` Veterinary Anesthesia and Analgesia (4<sup>a</sup> ed). Pp 203-240. Eds: Tranquilli WJ, Thurmon JC, Grimm KA. Blackwell Publishing, Oxford.

Lin G, Robben J, Murrell J, Aspegrén J, McKusick B, Hellebrekers L. (2008) Dexmedetomidine constant rate infusion for 24 hours during and after propofol or isoflurane anaesthesia in dogs. *Vet Anesth Analg*, 35: 141–153.

Lipman NS, Marini RP, Flecknell PA. (2008) Anesthesia and analgesia in rabbits. En: *Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals*, (2<sup>a</sup>ed). Pp 299-233. Eds: Fish RE, Brown MJ, Danneman PJ, Karas AZ. Elsevier, London.

Lukas, G., Brindle, S.D., Greengard, D. (1971) The route of absorption of intraperitoneally administered compounds. *J Pharmacol Exp Ther*, 178: 562-564.

Lukasik V. (1999) Premedication and sedation. En: Manual of Small Animal Anaesthesia and Analgesia. Pp 71-87. Eds: Seymour C, Gleed R. BSAVA, Cheltenham.

Maney JK, Shepard MK, Braun C, Cremer J, Hofmeister EH. (2013) A comparison of cardiopulmonary and anesthetic effects of an induction dose of alfaxalone or propofol in dogs. *Vet Anaesth Analg*, 40: 237–244.

Martinez-Gomez M, Cruz Y, Salas M, Hudson R, Pachecos P. (1994) Assessing pain threshold in the rat: Changes with estrus and time of day. *Physiol Behav*, 55:651–657.

Marsh MK, McLeod SR, Hansen A, Maloney SK. (2009) Induction of anaesthesia in wild rabbits using a new alfaxalone formulation. *Vet Rec*, 164: 122-123.

Mato M, Pérez A, Otero J, Torres LM. (2002) Dexmedetomidina, un fármaco prometedor. *Rev Esp Anesthesiol Reanim*, 49: 407-420.

Maze M. (2003) Pharmacology and use of alpha-2 agonists in anaesthesia. Refresher course. *Euroanaesthesia*, May 31.

Melcangi RC, Garcia-Segura LM, Mensah-Nyagan AG. (2008) Neuroactive steroids: state of the art and new perspectives. *Cell Mol Life Sci*, 65:777–797.

Mendes GM, Selmi AL, Selmi GR, Lins BT, Figueiredo JP. (2003) Clinical use of dexmedetomidine as premedicant in cats undergoing propofol-sevoflurane anesthesia. *J Feline Med Surg*, 5 (5): 265-270.

Meyer RE, Fish RE. (2008) Pharmacology of Injectable Anesthetics, Sedatives, and Tranquilizers. En: *Anesthesia and analgesia in laboratory animals* (2<sup>a</sup> ed). Pp 27-82. Eds: Fish RE, Brown MJ, Danneman PJ, Karas AZ. Elsevier, London.

Mensah-Nyagan AG, Do-Rego JL, Beaujean D, Luu-The V, Pelletier G, Vaudry H. (1999) Neurosteroids: Expression of steroidogenic enzymes and regulation of steroid biosynthesis in the central nervous system. *Pharmacol Rev*, 51:63–81.

Monteiro E, Teixeira F, Castro V, Campagnol D. (2007) Effects of acepromazine on the cardiovascular actions of dopamine in anesthetized dogs. *Vet Anaesth Analg*, 34: 312–321.

Morgaz J, Muñoz-Rascón P, Navarrete-Calvo R, Gómez-Villamandos RJ, Domínguez JM, Fernández-Sarmiento JA, Quirós S, Granados MM. (2012) Comparison of the cardiopulmonary parameters after induction of anaesthesia with alfaxalone or etomidate in dogs. *Vet Anaesth Analg*, 39: 357–365

Muir W, Mason D. (1996) Cardiovascular System. En: Lumb & Jones' *Veterinary Anesthesia* (3<sup>a</sup> ed). Pp 62-114. Eds: Thurmon JC, Tranquilli WJ, Benson GJ. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.

Muir W, Lerche P, Wiese A, Nelson L, Pasloske K, Whitem T. (2008) Cardiorespiratory and anesthetic effects of clinical and supraclinical doses of alfaxalone in dogs. *Vet Anaesth Analg*, 35: 451–462.

Muir W, Lerche P, Wiese A, Nelson L, Pasloske K, Whitem T. (2009) The cardiorespiratory and anesthetic effects of clinical and supraclinical doses of alfaxalone in cats. *Vet Anaesth Analg*, 36: 42–54.

Murison PJ, Martínez-Taboada F. (2010) Effect of propofol and alfaxalone on pain after ovariohysterectomy in cats. *Vet Rec*, 166: 334–335.

Murphy KL, Roughan JV, Baxter MG, Flecknell PA. (2010) Anaesthesia with a combination of ketamine and medetomidine in the rabbit: effect of premedication with buprenorphine. *Vet Anaesth Analg*, 37: 222–229.

Murrell J, Hellebrekers L. (2005) Medetomidine and dexmedetomidine: A review of cardiovascular effects and antinociceptive properties in the dog. *Vet Anaesth Analg*, 32: 117-127.

Murrell J. (2009) Alfaxalone (Alfaxan® CD-RTU). *UK Vet*, 14 (5), June.

Nadeson R, Goodchild CS. (2000) Antinociceptive properties of neurosteroids II. Experiments with Saffan (R) and its components alphaxalone and alphadolone to reveal separation of anaesthetic and antinociceptive effects and the involvement of spinal cord GABA(A) receptors. *Pain*, 88:31–39.

Nadeson R, Goodchild CS. (2001) Antinociceptive properties of neurosteroids III: Experiments with alphadolone given intravenously, intraperitoneally, and intragastrically. *Br J Anaesth*, 86: 704–708.

Navarrete-Calvo R, Gómez-Villamandos RJ, Morgaz J, Domínguez JM, Fernández-Sarmiento A, Muñoz-Rascón P, López Villalba I, Granados M. (2014) Cardiorespiratory, anaesthetic and recovery effects of morphine combined with medetomidine and alfaxalone in rabbits. *Vet Rec*, 174 (4): 95

Nicholas, T.E., Jones, M.E., Johnson, E.W. et al (1981) Metabolism of the steroid anaesthetic alphaxalone by the isolated perfused rat lung. *J Steroid Biochem*, 14: 45-51.

Nilsfors L, Garmer L, Adolffson A. (1989) Sedative and analgesic effects of medetomidine in dogs – an open clinical study. *Acta Vet Scand*, 85:155-159.

Nishida T, Nishimura M, Kagawa K, Hayashi Y, Mashimo T. (2002) The effects of dexmedetomidine on the ventilatory response to hypercapnia in rabbits. *Intens Care Med*, 28:969–975.

Norman, W.M., Court, M.H., Greenblatt, D.J. (1977) Age related changes in the PK disposition of diazepam in foals. *Am J Vet Res*, 58: 878-880.

O'hagan BJ. (2006) Neuropathic pain in a cat post-amputation. *Aust Vet J*, 84 (3): 83–86.

Orr HE, RoughanJV, FlecknellPA. (2005) Assessment of ketamine and medetomidine anaesthesia in the domestic rabbit. *Vet Anaesth Analg*, 32: 271–279.

Paddleford RR. (1999) Preanesthetic agents. En: *Manual of Small Animal Anesthesia* (2<sup>a</sup>ed). Pp 12-30. Ed. Paddleford RR. W.B. Saunders, Philadelphia.

Pascoe PJ, Raekallio M, Kuusela E, McKusick B, Granholm M. (2006) Changes in the minimum alveolar concentration of isoflurane and some cardiopulmonary measurements during three continuous infusion rates of dexmedetomidine in dogs. *Vet Anaesth Analg*, 33 (2): 97-103.

Peng HY, Chen GD, Lee SD, Lai CY, Chiu CH, Cheng CL, Chang YS, Hsieh MC, Tung KC, Lin TB. (2009) Neuroactive steroids inhibit spinal reflex potentiation by selectively enhancing specific spinal GABA(A) receptor subtypes. *Pain*, 143 (1-2):12-20.

Perrier, D. y Gibaldi, M (1974) Clearance and biological half-life as indices of intrinsic hepatic metabolism. *J Pharmacol ExpTher*, 191: 17-24

Proost JH. MULTIFIT Y PkPdFIT Programs. (1994) Department of Pharmacology and Therapeutics. University Centre for Pharmacy. University of Groningen.

Pypendop B, Verstegen J. (1998) Haemodynamic effects of medetomidine in the dog: a dose titration study. *Vet Surg*, 27: 612–622.

Quirós S, Navarrete-Calvo R, Granados MM, Domínguez JM, Morgaz J, Fernández-Sarmiento JA, Muñoz-Rascón P, Gómez-Villamandos RJ. (2014) Cardiorespiratory and anaesthetic effects of two continuous rate infusions of dexmedetomidine in alfaxalone anaesthetized dogs. *Res Vet Sci*, 97: 132–139.

Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ. (2008) Eliminación de los fármacos y farmacocinética. En: Rang y Dale Farmacología (6ª ed). Pp 113-127. Eds: Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ. Editorial Elsevier, Barcelona.

Ratka A, Simpkins JW. (1991) Effects of estradiol and progesterone on the sensitivity to pain and on morphine induced antinociception in female rats. *Horm Behav*, 25:217–228.

Salmenpera MT, Szlam F, Hug CC. (1994) Anesthetic and hemodynamic interactions of dexmedetomidine and fentanyl in dogs. *Anesthesiology*, 80: 837-846.

Schroeder SA, Smith LJ. (2011) Respiratory rates and arterial blood-gas tensions in healthy rabbits given buprenorphine, butorphanol, midazolam, or their combinations. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 50 (2): 205-211.

Schwartz C. (1998) Affinity of detomidine, medetomidine and xylazine for alpha-2 adrenergic receptor subtypes. *J Vet Pharmacol Ther*, 21 (2): 107–111.

Seyrek M, Halici Z, Yildiz O, Ulusoy HB. (2011) Interaction between dexmedetomidine and  $\alpha$ -adrenergic receptors: emphasis on vascular actions. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 25 (5): 856-862.

Selmi AL, Mendes GM, Lins BT, Figueiredo JP, Barbudo-Selmi GR.(2003) Evaluation of the sedative and cardiorespiratory effects of dexmedetomidine, dexmedetomidine-butorphanol, and dexmedetomidine-ketamine in cats. *J Am Vet Med Assoc*, 222:37–42.

Schumacher M, Guennoun R, Robert F, Carelli C, Gago N, Ghomari A, Gonzalez MC, Gonzalez SL, Ibanez C, Labombarda F, Coirini H, Baulieu EE, DeNicola AF. (2004) Local synthesis and dual actions of progesterone in the nervous system: neuroprotection and myelination. *Growth Horm IGF Res*, 14: 18–33.

Sinclair M. (2003) A review of the physiological effects of  $\alpha$ -2-agonists related to the clinical use of medetomidine in small animal practice. *Can Vet J*, 44: 885-897.

Smith JC, Danneman PJ. (2008) Monitoring of anaesthesia. En: *Anesthesia and analgesia in laboratory animals (2ª ed)*. Pp 171-182. Eds: Fish RE, Brown MJ, Danneman PJ, Karas AZ. Elsevier, London.

Sumano López HS, Ocampo Camberos L. (2006a) Fármacos que actúan sobre el sistema nervioso central: Introducción a los anestésicos. En: *Farmacología Veterinaria, 3ª ed*. Pp. 599-603. McGraw-Hill Interamericana Editores S.A., México D.F.

Sumano López HS, Ocampo Camberos L. (2006b) Farmacodinámica. En: *Farmacología Veterinaria, 3ª ed*. Pp. 105-115. McGraw-Hill Interamericana Editores S.A., México D.F.

Tamura J, Ishizuka T, Fukui S, Oyama N, Kawase K, Miyoshi K, Sano T, Pasloske K, Yamashita K. (2015) The pharmacological effects of the anesthetic alfaxalone after intramuscular administration to dogs. *J Vet Med Sci*, 77 (3): 289–296.

Terada Y, Ishiyama T, Asano N, Kotoda M, Ikemoto K, Shintani N, Sessler DI, Matsukawa T. (2014) Optimal doses of sevoflurane and propofol in rabbits. *BMC Res Notes*, 7:820.

Thurmon JC, Tranquilli WJ, Benson GJ. (1996) Preanesthetics and anesthetic adjuncts. En: Lumb & Jones` *Veterinary Anesthesia* (3<sup>a</sup> ed). Pp 183-210. Eds: Thurmon JC, Tranquilli WJ, Benson GJ. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore.

Thurmon JC, Short CE. (2007) History and overview of veterinary anaesthesia. En: Lumb & Jones` *Veterinary Anesthesia and Analgesia* (4<sup>a</sup> ed). Pp 3-6. Eds: Tranquilli WJ, Thurmon JC, Grimm KA. Blackwell Publishing, Oxford.

Tutunaru AC, Şonea A, Drion P, Serteyn D, Sandersen Ch. (2013) Anesthetic induction with alfaxalone may produce hypoxemia in rabbits premedicated with fentanyl/droperidol. *Vet Anaesth Analg*, 40 (6):657–659.

Venn RM, Bradshaw CJ, Spencer R, Brealey D, Caudwell E, Naughton C, Vedio A, Singer M, Feneck R, Treacher D, Willatts SM, Grounds RM. (1999) Preliminary UK experience of dexmedetomidine, a novel agent for postoperative sedation in the intensive care unit. *Anaesthesia*, 54: 1136–1142.

Visser SAG, Smulders CJ, Gladdines WW, Irth H, Vand der Graaf PH, Danhof M. (2000) High-performance liquid chromatography of the neuroactive steroids alfaxalone and pregnanolone in plasma using dansyl hydrazine as fluorescent label: application to a pharmacokinetic-pharmacodynamic study in rats. *J Chromatogr B*, 745: 357-363.

Vives MA, Higuera MT, Leuza A. (1992) Antecedentes históricas de la anestesia veterinaria. En: *Anestesia Práctica de Pequeños Animales*. Pp 1-14. Eds: Ezquerro Calvo LJ, Vives Vallés MA, Usón Gargallo J. Interamericana Mc-Graw- Hill de España, Madrid.

Vives MA, Usón J. (1992) Monitorización anestésica. En: Anestesia Práctica de Pequeños Animales. Pp 193-212. Eds: Ezquerro Calvo LJ, Vives Vallés MA, Usón Gargallo J. Interamericana Mc-Graw- Hill de España, Madrid.

Warne LN. (2013) Alfaxalone anesthesia in the cat. Proceedings of the 19<sup>th</sup> International Veterinary Emergency and Critical Care Symposium. San Diego, California, USA, 7–11 September. Pp 413–415.

Warne LN, Beths T, Whitem T, Carter JE, Bauquier SH. (2015) A review of the pharmacology and clinical application of alfaxalone in cats. *Vet J*, 203: 141–148.

Wenger S. (2012) Anesthesia and analgesia in rabbits and rodents. *J Exot Pet Med*, 21: 7–16.

Whitem T. (2006) Anaesthesia and analgesia at the central GABA<sub>A</sub> receptor. *J Vet Pharmacol Therap*, 29 (1): 47–50.

Whitem T, Pasloske KS, Heit MC, Ranasinghe MG. (2008) The pharmacokinetics and pharmacodynamics of alfaxalone in cats after single and multiple intravenous administration of Alfaxan at clinical and supraclinical doses. *J Vet Pharmacol Therap*, 31: 571–579.

Woodward KN. (2005) Veterinary pharmacovigilance. Part 3. Adverse effects of veterinary medicinal products in animals and on the environment. *J Vet Pharmacol Therap*, 28: 171–184.

Xu H, Aibiki M, Seki K, Ogura S, Ogli K. (1998) Effects of dexmedetomidine, an  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonist, on renal sympathetic nerve activity, blood pressure, heart rate and central venous pressure in urethane-anesthetized rabbits. *J Auton Nerv Syst*, 71: 48-54.

Ypsilantis P, Didilis VN, Politou M, Bougioukas I, Bougioukas G., Simopoulos C. (2005) A comparative study of invasive and oscillometric methods of arterial blood pressure measurement in the anesthetized rabbit. *Res Vet Sci*, 78: 269–275.

Zaki S, Ticehurst KE, Miyaki Y. (2009) Clinical evaluation of Alfaxan-CD® as an intravenous anaesthetic in young cats. *Aust Vet J*, 87: 82–87.

Zoran DL, Riedesel DH, Dyer DC. (1993) Pharmacokinetics of propofol in mixed-breed dogs and greyhounds. *Am J Vet Res*, 54: 755-760.