UNIVERSIDAD DE MURCIA

FACULTAD DE VETERINARIA

Efecto Clínico de la Inyección Intramuscular de Alfaxalona Sola o en Combinación con Dexmedetomidina y Estudio Farmacocinético-Farmacodinámico en la Especie Felina

D. Diego Rodrigo Mocholí

2015

UNIVERSIDAD DE MURCIA

TESIS DOCTORAL

"Efecto clínico de la inyección intramuscular de alfaxalona sola o en combinación con dexmedetomidina y estudio farmacocinético–farmacodinámico en la especie felina "

DOCTORANDO : Diego Rodrigo Mocholí **DNI: 24381007-H**

DIRECTOR/ES:

Fdo: **Dr. Francisco G. Laredo Álvarez**
Departamento de Medicina y Cirugía Animal
DNI: 27453974-R

Fdo: **Dr. Eliseo Belda Mellado**
Departamento de Medicina y Cirugía Animal
DNI: 45569330-M

Fdo: **Dr. Pedro Marín Carrillo**
Departamento de Farmacología
DNI: 48487698-H

"Las toallas son para secarse el sudor,

nunca para tirarlas"

DANI ROVIRA, Actor y, ante todo, Humorista

A mis padres y hermano

A toda mi familia

A mi primo Paco, siempre estarás con nosotros

AGRADECIMIENTOS

Quisiera mostrar mi más sincera gratitud:

A los directores de esta Tesis Doctoral, **D. Francisco G. Laredo Álvarez, D. Eliseo Belda Mellado y D. Pedro Marín Carrillo**, por todo su apoyo y colaboración durante la elaboración de este proyecto.

A **D. Paco Laredo**, no sólo como director de esta Tesis Doctoral, sino como mentor ("carlanco") en el campo de la anestesiología veterinaria y, en ocasiones, como padre y amigo dándome su apoyo (y algunas broncas). Gracias por toda tu paciencia.

A **Dña. Elisa Escudero Pastor**, por sus sabios consejos a nivel del campo de la farmacología, por su gran ayuda en la parte experimental y, sobre todo, por la paciencia que ha depositado en mí durante la última fase de la realización de esta Tesis Doctoral.

A mis padres, **Suni y Jose Arturo**, porque se quedarían cortas todas las palabras con las que podría expresar mi eterno agradecimiento, ya que nunca me hubiera convertido en la persona que ha madurado en mí gracias a toda vuestra dedicación depositada, y que seguirá aprendiendo de vosotros cada día que comparta a vuestro lado para llegar a ser la mitad de buen padre de lo que sois vosotros.

A mi hermano **Samuel**, eres mi ejemplo a seguir, no sólo como hermano, sino como un gran amigo y un excelente profesional. Siempre has estado ahí para defender a tu hermano pequeño. Gracias tete!

A **toda mi familia** en general, pues sois todos un ejemplo de superación.

A todos los compañeros del Hospital Veterinario de la Universidad de Murcia con los que he pasado momentos geniales y que me han ayudado en situaciones difíciles. En especial a **Francisco de Membiela y Ramón Almela,** que se conviertieron en compañeros para llegar a ser grandes buenos amigos, siendo mis personales "Dr. Zius" (buen trabajo, doctor) y "Juein" (espero que nunca encontremos nuestras

sombras). A **Juani y Carlos Micó**, con sus muestras de apoyo siempre. A **Agus y Miriam**, que hubiera sido del Badulake sin vosotras. A **Nati**, que espero disfrute de su vida en Italia (ciao!). A **Micha**, que ha traido unos bebes preciosos a esta vida. A **Mayte y Eliseo**, por ayudarme en mis primeros pasos en el departamento de Anestesia. A **Karla y Chus**, mis señoritas de caballos, os agradezco vuestra ayuda durante las anestesias a deshoras. A todos los demás (y que se me escapan de nombrarles) que me ayudarón y con los que nos echamos unas risas (**Irene, María Cascales, Paco "peloazul" Pérez,…**).

A los amigos de verdad (considerados hermanos y chochetes), por los momentos inolvidables que hemos pasado y que pasaremos. Gracias a **Luisico** (novia mia!) por perdernos en la montaña con la bicicleta, a **Toni** por las Manualidades Disney, a **Rafa** por los bailes metralletas que nos hemos echado, a **Fran** por las crestas de ninfas, a **Sharkchez** por la de veces que nos has pegado de lo lindo, a **Juao** por su mojo sin fin, a **Jose Ramón** por el urriaje y a **Jorge** por su manejo del balón. A **Josico**, que inolvidable fue tenerte de compañero durante la sobremesa en la cantina (acho, que giro?). A **Ross y Joel**, por las grandes anécdotas vividas a vuestro lado. A **Luis**, por esos domingos interminables en Murcia.

A todo el **personal de la cantina veterinaria**, habéis sido mi segunda familia en Murcia y en la que siempre tenía un hombro donde apoyarme.

A **Sonia**, por ser de momento mi compañera en este viaje que es la vida.

A toda la gente que ha pasado por mi vida y ha significado algo para mí.

INDICE

1. *Introducción y Objetivos* 1

1.1. Antecedentes y Estado actual 2

1.2. Justificación 6

1.3. Hipótesis y Objetivos 8

2. *Revisión Bibliográfica* 9

2.1. Alfaxalona 10

2.1.1. Introducción histórica 10

2.1.2. Propiedades clínicas 14

Efecto anestésico 14

Nocicepción 15

Sistema cardiovascular 16

Sistema respiratorio 17

2.1.3. Características farmacocinéticas 19

Absorción 19

Distribución 20

Metabolismo 22

Eliminación 24

Seguridad 24

2.1.4. Uso práctico 25

Crecimiento microbiano 25

Rutas de administración 25

Infusión contínua 26

2.2. Dexmedetomidina 28

2.2.1. Introducción 28

2.2.2. Propiedades clínicas 29

Nocicepción 29

Efecto hipnótico 30

Sistema cardiovascular 30

Sistema respiratorio 31

2.2.3. Dexmedetomidina en combinación con alfaxalona 32

3. *Materiales y Métodos* 35

3.1. Experiencia 1: Efecto clínico de la inyección intramuscular de alfaxalona sola o en combinación con dexmedetomidina 36

3.1.1. Material 37

3.1.1.1. Fungible 37

3.1.1.2. Productos 37

3.1.1.3. Aparatos 37

3.1.2. Método experimental 38

3.1.3. Análisis estadístico 43

3.2. Experiencia 2: Estudio farmacocinético y farmacodinámico 44

3.2.1. Material 44

3.2.1.1. Fungible 44

3.2.1.2. Productos y reactivos 45

3.2.1.3. Aparatos 46

3.2.2. Método experimental 47

3.2.3. Técnica analítica 49

3.2.3.1. Validación de la técnica 50

Linealidad 50

Recuperación 51

Precisión 51

Límite de cuantificación y detección 51

3.2.3.2. Análisis farmacocinético 52

3.2.4. Análisis estadístico 53

4. *Resultados* 55

4.1. Experiencia 1: Efecto clínico de la inyección intramuscular de alfaxalona sola o en combinación con dexmedetomidina 56

Efecto clínico 56

Intubación 56

Duración de la anestesia 57

Parámetros hemodinámicos 57

Parámetros respiratorios 60

Efectos adversos 60

4.2. Experiencia 2: Estudio farmacocinético y farmacodinámico 63

4.2.1. Estudio farmacocinético 63

Administración intravenosa de alfaxalona 63

Administración intramuscular de alfaxalona 68

Comparación de los parámetros farmacocinéticos de la alfaxalona obtenidos tras su administración intravenosa e intramuscular administrada de forma única 69

Comparación de la disposición de la alfaxalona tras su administración intravenosa e intramuscular administrada de forma única 74

4.2.2. Estudio farmacodinámico 75

Reacción tras la administración 75

Duración del efecto clínico 75

Efecto clínico 75

Reacciones adversas 76

5. *Discusión* 79

5.1. Experiencia 1: Efecto clínico de la inyección intramuscular de alfaxalona sola o en combinación con dexmedetomidina 80

5.2. Experiencia 2: Estudio farmacocinético y farmacodinámico 89

Administración intravenosa de alfaxalona 89

Administración intramuscular de alfaxalona 99

6. *Conclusiones* 105

7. ***Resumen*** ***109***

7.1. Experiencia 1: Efecto clínico de la inyección intramuscular de alfaxalona sola o en combinación con dexmedetomidina ***110***

7.2. Experiencia 2: Estudio farmacocinético y farmacodinámico ***112***

8. ***Summary*** ***115***

8.1. First experience: Clinical effect after intramuscular administration of alfaxalone alone or in combination with dexmedetomidine ***116***

8.2. Second experience: Pharmacokinetic and pharmacodynamic study ***118***

9. ***Bibliografía*** ***121***

1. INTRODUCCIÓN

1.1. ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL

Actualmente, los tranquilizantes y sedantes se usan ampliamente en la práctica veterinaria para contener químicamente a nuestros pacientes a la hora de realizar diversos procedimientos diagnósticos, así como de cara a la premedicación previa a la anestesia con vista a procedimientos quirúrgicos (Murrell 2007). Cuando se emplean de forma adecuada, proporcionan un estado de calma y sedación que permite vencer la resistencia y la excitación que en condiciones normales se manifestaría antes y durante la inducción anestésica, además, reducen el estrés y las dosis necesarias de anestésicos generales por fenómenos de sinergismo (Hall y Clarke 2001, Muir 2008).

La activación central de los receptores adrenérgicos α_2 induce una sedación potente acompañada de analgesia. Ambos efectos explicarían la popularidad de los sedantes agonistas adrenérgicos α_2 (xilacina, medetomidina, romifidina, dexmedetomidina) y su amplia utilización clínica en la especie felina. La medetomidina [± 4 - (1 - (2,3-dimetilfenil) etil) -1H – imidazol] es un potente fármaco agonista $\alpha_2$adrenérgico altamente selectivo (Savola y cols. 1986, Virtanen y cols. 1988) que induce sedación y analgesia dosis dependiente, y es ampliamente utilizado en pequeños animales, incluídos el perro y el gato (Stenberg y cols. 1987, Vainio 1989, Vähä-Vahe 1989). La medetomidina es una mezcla racémica 1:1 de dos enantiómeros ópticamente activos de los cuales sólo el d-isómero (dexmedetomidina) es farmacológicamente activo a dosis clínicamente relevantes (Virtanen y cols. 1988, Savola y Virtanen 1991, Aantaa y Scheinin 1993). El L-isómero, levomedetomidina, es esencialmente inactivo aunque estudios in vitro demuestran que podría poseer una acción agonista α_2 parcial o débil o, incluso, propiedades inversas (Jansson y cols. 1994, 1998). Estudios farmacodinámicos efectuados con medetomidina en el perro han demostrado que su

efecto se debe exclusivamente al estereoisómero activo dexmedetomidina, mientras que la levomedetomidina como ya mencionamos es virtualmente inactiva (Vickery y cols. 1988; Kuusela y cols. 2000, 2001). Un estudio experimental realizado en gatos comparando tres dosis diferentes de dexmedetomidina frente a medetomidina, demostró que la dexmedetomidina poseía un efecto farmacodinámico similar a la medetomidina (Ansah y cols. 1998).

Es bien conocida la capacidad reductora sobre los requerimientos de agente anestésico de la dexmedetomidina, cuando se administra durante la fase de premedicación o justo antes de la inducción anestésica en seres humanos (Kallio y cols. 1989, Aho y cols. 1991, Aantaa y cols. 1990, Peden y Prys-Roberts 1992), ratas (Segal y cols. 1988), perros (Vickery y cols. 1988, Bloor y cols. 1992, Devcic y cols. 1994) y gatos (Mendes y cols. 2003). A pesar de las ventajas clínicas que ofrece el uso de agonistas α_2 adrenérgicos (sedación y analgesia dosis dependiente reversible por medio del atipamezol), sus marcados efectos sobre el sistema cardiovascular recomiendan su uso cauteloso en pacientes comprometidos y geriátricos. Hay numerosos estudios que describen los efectos potencialmente adversos de estos agonistas a nivel del sistema cardiovascular. Entre otros, destacan su efecto bifásico típico sobre la presión sanguínea debido a la disminución de la frecuencia e índice cardíacos y al aumento de la resistencia vascular sistémica y presión venosa central (Bloor y cols. 1992; Pypendop y Verstegen 1998; Kuusela y cols. 2000, 2001; Lamont y cols. 2001).

En la década de los 40 se realizaron los primeros estudios sobre los anestésicos esteroideos. En ellos se describe la capacidad de estos agentes para inducir una anestesia general, acompañada de cierta relajación muscular y analgesia (Selye 1941a, 1941b, 1941c, 1942). La alfaxalona y la alfadolona se consideraron anestésicos particularmente

efectivos, de modo que fueron comercializados en una mezcla conocida como CT 1341, que coformulaba ambos compuestos y los vehiculaba en aceite de ricino polietoxilado (Cremophor EL) 20% y surfactante (Child y cols. 1971). Esta preparación fue distribuída en muchos países, no así en Estados Unidos, para su empleo en animales con el nombre de Saffan® (Glaxovet, Toronto, Canadá) (Evans 1975); y en anestesia humana bajo la marca Althesin® (Glaxo Smith Kline, Middlesex, UK) (Campbell y cols. 1971, Clarke y cols. 1971, Savege y cols. 1971). La alfaxalona, alfadolona y otros derivados esteroideos con propiedades neuroactivas (neuroesteroides) son capaces, como ya mencionamos, de proporcionar un grado de anestesia y antinocicepción derivado de la activación y modulación de los efectos inhibitorios del ácido γ - aminobutírico (GABA) a nivel del complejo de los receptores GABA (Lambert y cols. 2003). Posterioremente, se demostró que la alfaxalona posee casi el doble de la potencia anestésica de la alfadolona (Goodchild y cols. 2000, Nadeson y Goodchild 2000). Los efectos a nivel cardiorrespiratorio de estos anestésicos, similares en seres humanos y animales, se caracterizaban por ser poco pronunciados en comparación a los provocados por otros agentes anéstesicos como tiopental, metohexital, ketamina o propofol, lo que sugirió su mayor seguridad (Child y cols. 1972, Haskins y cols. 1975, Blake y Korner 1981). Así, estudios realizados con CT 1341 en gatos sanos a dosis de 15 mg/kg administrada por vía intramuscular describieron estados de hipotensión moderada durante la anestesia (Middleton y cols. 1982). No obstante, otros estudios realizados también en gatos, a dosis clinicas adecuadas (9 - 12 mg/kg) pero en administración endovenosa, describieron depresión cardiorrespiratoria significativa y la posibilidad de apnea post-inducción (Dyson y cols. 1987). A pesar de la mayor seguridad aparente del CT 1341, se describieron reacciones de hipersensibilidad relacionadas con el excipiente Cremophor EL (Prys-Roberts y Sear 1980). En seres humanos y en la especie canina, la

liberación de histamina atribuida al Cremophor EL provocaba cuadros anafilactoides acompañados de hipotensión, urticaria y eritema cutáneo. En la especie felina, se observaron reacciones más suaves caracterizadas por hiperemia de las extremidades delanteras en un 70% de los animales (Haskins y cols. 1975, Middleton y cols. 1982). Finalmente, las reacciones anafilacticas observadas en la especie humana condujeron a la retirada del mercado del Althesin® (Prys-Roberts y Sear 1980, Mehta 1981), y más tarde, y por razones análogas, también del Saffan®.

En la actualidad, la alfaxalona ha sido reformulada como una solución estéril 1% (w/v) clara e incolora vehiculada en un nuevo excipiente 2 – hidroxipropil – β - ciclodextrina (HPβCD). El uso de HPβCD como excipiente aumenta la solubilidad de la alfaxalona hasta 10 veces y se considera seguro, así su dosis letal en perros es de más de 5000 mg/kg en una única inyección (Brewster y cols. 1989, 1990; Estes y cols. 1990, Coussement y cols. 1990). Los efectos cardiorrespiratorios de la nueva formulación de alfaxalona en perros y gatos, han demostrado ser mínimos, presentando además un elevado margen de seguridad y propiedades anestésicas dosis - dependiente (Pearson y cols. 2003). Por todo ello, la reintroducción en el mercado veterinario de la alfaxalona (Alfaxan®) para su uso en perros y gatos en Australia y Nueva Zelanda, y posteriormente en Sudáfrica, Reino Unido, y otros países de Europa, incluída España, ha renovado actualmente el interés por la anestesia esteroidea.

1.2. JUSTIFICACIÓN

La práctica correcta de la anestesia se basa en un conocimiento general de los efectos que los diversos agentes sedantes, analgésicos y anestésicos producen sobre los animales; la correcta metodología de administración de estos fármacos; así como de la capacidad de respuesta frente a complicaciones y/o emergencias relacionadas con su uso. La facilidad de administración, los requerimientos mínimos de equipamiento y la seguridad en el entorno de trabajo y del personal expuesto son áreas en los que enfocar esfuerzos para eldesarrollo de fármacos relacionados con el campo de la anestesiología y técnicas más seguras y efectivas.

En el ámbito clínico, el gato doméstico tiende a ser en la mayoría de los casos una especie difícil de manejar. Su carácter independiente y talante nervioso y desconfiadohace que en ocasiones la sedación profunda y/o la anestesia sean las únicas formaspara poder manipularlos con comodidad y, sobre todo, garantizar la seguridad del veterinario y personal clínico expuesto. Es por ello que el uso en esta especie de la ruta intramuscular de cara a la administración de sedantes, analgésicos y/o anestésicos eficaces supone en muchas situaciones una excelente alternativa, o incluso, a veces, la única opción viable.

Al diseñar el proyecto de esta Tesis Doctoral, no existía ninguna descripción acerca de la eficacia de la administración de la nueva formulación de alfaxalona por vía intramuscular en el gato, ni de sus efectos a nivel cardiovascular y respiratorio. No obstante, a lo largo del desarrollo de este trabajo, se han publicado algunos estudios al respecto (Grubb y cols. 2013, Ribas y cols. 2014, Tamura y cols. 2015b), pero juzgamos que este número de referencias podría considerarse aún escaso.

Ante lo expuesto, este trabajo se justifica por la necesidad e interés clínico de obtener nueva información sobre la eficacia de la administración intramuscular de alfaxalona sola o en combinación con dexmedetomidina en la especie felina, así como de describir los efectos clínicos y cardiorespiratorios derivados del uso de estas combinaciones. Además, se plantea la realización de un estudio farmacocinético y farmacodinámico, para determinar entre otras la biodisponibilidad de la alfaxalona tras su administración intramuscular. Esta segunda parte del estudio es muy novedosa ya que podría constituir la primera referencia efectuada a este nivel tras la administración intramuscular de alfaxalona en la especie felina.

1.3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La presente Tesis Doctoral se ha diseñado para corroborar o descartar las siguientes hipótesis:

- El uso exclusivo de alfaxalona por vía intramuscular es capaz de inducir un efecto clínico variable de sedación y/o anestesia. Este efecto podría ser potenciado por la adición de dexmedetomidina.
- La administración de alfaxalona por vía intramuscular proporcionará unas concentraciones plasmáticas suficientes como para inducir un efecto sedación y/o anestesia clínicamente relevante.

Por lo expuesto, los objetivos planteados en esta Tesis son:

- Estudiar el efecto sedante y/o anestésico de la alfaxalona administrada sola o en combinación con dexmedetomidina por vía intramuscular en la especie felina.
- Determinar los efectos a nivel cardiorrespiratorio observados en gatos tras el empleo intramuscular de estas combinaciones.
- Efectuar un estudio farmacocinético y farmacodinámico comparativo tras la administración de alfaxalona por vía intramuscular y endovenosa en la especie felina.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. *ALFAXALONA*

2.1.1. Introducción histórica

Los esteroides neuroactivos son moléculas esteroideas naturales o sintéticas que rápidamente alteran la excitabilidad neuronal gracias a su afinidad por receptores de membrana que modulan neurotransmisores inhibitorios y/o excitatorios (Paul y Purdy 1992)

A principio de los años 40 se descubrió que independientemente del grado de actividad hormonal del compuesto, la progesterona, el acetato de desoxicorticosterona (ACD) y otros andrógenos y estrógenos eran capaces de inducir anestesia general en animales de experimentación (rata, ratón, conejo de indias, conejo y gato) si se administraban vía intraperitoneal o endovenosa a dosis lo suficientemente elevadas; entre ellos el ACD y la progesterona resultaban los más potentes a este nivel (Selye 1941a, 1941b, 1941c). Las investigaciones iniciales de Selye acerca de las propiedades anestésicas de estos agentes, junto a otras características positivas como un índice terapéutico elevado, mínimos efectos a nivel cardiorespiratorio, rapidez de acción y escasos efectos acumulativos, en comparación a otros anestésicos, promovieron su uso en la práctica clínica (Gyermek y Soyka 1975).

Inicialmente se planteó como hipótesis, a pesar de las claras diferencias estructurales existentes a nivel químico, que los anestésicos esteroideos ejercían su efecto sobre el sistema nervioso central (SNC) de manera similar a los barbitúricos y los anestésicos inhalatorios, ya que el tipo de electroencefalograma resultante de la administración de estos anestésicos era equivalente (Gyermek y Soyka 1975). Posteriormente, se demostró que la alfaxalona, como análogo estructural de los

esteroides, incrementaba el tiempo de inhibición de la conducción a nivel postsináptico en neuronas del córtex olfatorio de cobayas, lo que implicaba una acción a nivel de la transmisión del GABA, principal neurotransmisor a nivel cerebral (Schofield 1980). Estudios posteriores realizados con alfaxalona describen su unión estereoselectiva y gran afinidad por una subclase de receptores del GABA, los de tipo A ($RGABA_A$) lo que induciría aumentos de la conductancia del ion Cl^- (Harrison y Simmonds 1984; Majewska y cols. 1986; Lan y Gee 1994; Lambert y cols. 1995, 2003).

La alfaxalona (3α – hidroxi - 5α – pregnano - 11, 20 - diona) (Figura 1) comenzó a utilizarse como agente anestésico en animales desde la década de los 70, debido a algunas de las propiedades positivas ya reseñadas con anterioridad para los anestésicos esteroideos, tales como la rápida inducción de un estado de anestesia general de corta duración, rápida recuperación libre de complicaciones, alto nivel terapéutico, compatibilidad con otros adyuvantes y ausencia de efectos irritantes a nivel vascular (Child y cols. 1971).

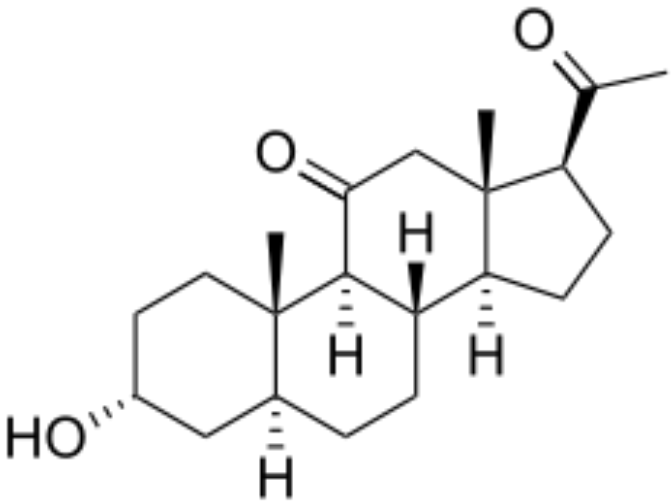


Figura 1. Estructura molecular de la alfaxalona (3α – hidroxi - 5α – pregnano - 11, 20 - diona).

Child y cols. (1971) estudiaron en animales los efectos de la formulación CT 1341, consistente en un una mezcla de alfaxalona al 0.9% (3α – hidroxi - 5α – pregnano - 11, 20 - diona) y acetato de alfadolona al 0.3% (21 – acetoxi - 3α-hidroxi - 5α – pregnano - 11, 20 - diona), ambos derivados de la pregnanodiona. Ambos compuestos presentaban carácter anestésico, pero era realmente la alfaxalona la más potente a este nivel, justificándose la inclusión de la alfadolona en la formulación para incrementar su solubilidad. Debido a la escasa hidrosolubilidad de esta mezcla, se utilizó Cremophor EL al 20%, una forma polioxietilada de aceite de ricino, como excipiente (Campbell y cols. 1971; Child y cols. 1971, 1972; Clarke y cols., 1971; Evans y cols. 1972). El CT 1341 se popularizó como anestésico para uso tanto en el ser humano (Althesin®) como en animales (Saffan®) prácticamente en todos los continentes, aunque no en Estados Unidos.

Otros estudios, corroboraron los hallazgos de Child y cols (1971) acerca del CT 1341, y las ventajas de este anestésico sobre otros agentes (Campbell y cols. 1971, Savege y cols. 1971, Clarke y cols. 1971, Swerdlow y cols. 1971, Jones y cols. 1972). A pesar de todas estas características favorables, empezaron a describirse reacciones adversas tras el uso de CT 1341, asociados en su mayoría al excipiente (Savege y cols. 1973, Watkins y Dye 1980). Posteriormente, se realizaron estudios en humanos reduciendo la dosis de Cremophor EL, y aunque quedaba claro que los efectos a nivel cardiovascular eran mínimos, no se excluía la posibilidad de que el excipiente indujese reacciones anafilácticas (Savege y cols. 1973). En humanos, el factor más relevante que daba lugar a anafilaxia asociada a Althesin® era el hecho de haber tenido una exposición previa a este anestésico, lo que generaba un aumento de los niveles plasmáticos de inmunoglobulina E, aunque tampoco la presentación de valores normales de estos anticuerpos excluía la posibilidad de que aconteciese una reacción

adversa. Por ello, se planteaba también la hipótesis de que se debiese a una reacción anormal al fármaco (Doenicke y cols. 1973, Dundee y cols. 1974, Clarke y cols. 1977). La incidencia de reacciones alérgicas con signos de eritema y urticaria en cara, cuello y tórax de humanos se situaba en valores variables según diferentes estudios. Así, se describió su aparición con una probabilidad variable según diversos estudios: en un 40% de los casos (Doenicke y cols. 1974), un caso por cada 14.000 - 19.000 anestesias (Clarke y cols. 1975), un caso por cada 900 anestesias (Watt 1975, Fisher 1975) y un caso por cada 1900 anestesias (Evans y Keogh 1977).

Wirth y Hoffmeister (1965) y Glen y cols (1979) demostraron que el Cremophor EL por si solo podía causar reacciones anafilácticas severas, caracterizadas por hipotensión grave, consecuencia directa de la liberación de histamina en el perro y en cerdos miniatura. Sin embargo, el uso de CT 1341 en gatos producía en el 25% de animales anestesiados reacciones leves con edema facial (hocico y orejas) y de extremidades, de carácter transitorio, normalmente de menos de 2 horas de duración (Evans 1975, Jones 1979).

Aunque en la mayoría de casos estas reacciones eran leves y de corta duración; debido a su elevada incidencia y a su severidad en algunos casos, se cuestionó la seguridad del CT 1341, cayendo en desuso en la práctica veterinaria y siendo retirado del mercado para su uso en el ser humano (Evans y Keogh 1977).

En la década de los 80, se retomaron nuevos estudios para formular una alternativa segura para la reintroducción de la alfaxalona como agente anestésico en el mercado veterinario. Este interés surgió a raíz de la realización de experimentos preliminares encaminados al uso de derivados de las ciclodextrinas como solubilizantes de compuestos esteroideos (Pitha y Pitha 1985, Müller y Brauns 1985, Brewster y cols.

1989). La mezcla de alfaxalona con HPβCD permitio un aumento notable de la solubilidad de la alfaxalona, lo que hacía factible su uso en ratas, monos y perros, evitando los efectos adversos derivados del antiguo excipiente (Brewster y cols. 1990, Estesy cols. 1990).

Desde finales de los 90 hasta nuestros días, diversos estudios se han realizado en una amplia variedad de especies que demuestran la seguridad y efecto positivo de la nueva formulación de alfaxalona como agente anestésico (Patten y cols. 1998; Keates 2003; Muir y cols. 2004; Whitten y cols. 2004; Pasloske y cols. 2005, 2007, 2008; O'Hagan 2008; Grint y cols. 2008; Leece y cols. 2009; Bertelsen y Sauer 2011; Walsh y cols. 2012; Olsson y cols. 2013; Navarrete-Calvo y cols. 2014).

2.1.2. Propiedades Clínicas

Efecto anestésico

La alfaxalona ejerce su efecto anestésico gracias a una modulación alostérica positiva sobre el $RGABA_A$ (Lambert y cols. 2003). El $RGABA_A$ es un receptor ionotrópico y cuyo canal iónico esta regulado por el GABA, el cual es el principal neurotransmisor inhibidor del sistema nervioso central de los mamíferos. El sitio activo del $RGABA_A$ es el lugar de unión para el GABA, y para otros fármacos tales como el muscimol, gaboxadol y bicuculina. Dicho receptor también contiene un número de sitios alostéricos de unión diferentes que modulan indirectamente su actividad. Estos sitios alostéricos son el blanco para otros fármacos tales como las benzodiacepinas, barbitúricos, etanol, esteroides neuroactivos, anestésicos inhalatorios y picrotoxina, entre otros (Johsnton 1996). En estudios iniciales, se pudo observar que el uso de concentraciones bajas de alfaxalona modulaba potencialmente la actividad del

$RGABA_A$ por medio de un proceso que incluía la prolongación del tiempo de apertura de los canales de cloro (Harrison y Simmonds 1984). Por otra parte, el uso de alfaxalona a concentraciones elevadas, pero en ausencia de GABA, demostraba un efecto agonista directo sobre los canales del cloro del $RGABA_A$ (Cottrell y cols. 1987).

Nocicepción

En cuanto a la actividad analgésica de los anestésicos esteroideos, Le Bars y cols. (1976) concluyeron que el CT 1341 poseía cierto efecto analgésico debido al efecto negativo directo que ejercía a nivel de las sinapsis sensoriales de las neuronas localizadas en el asta dorsal de la médula espinal en gatos. Estudios más recientes en ratas demostraron que el efecto antinociceptivo del Saffan® era debido solamente a uno de sus componentes, la alfadolona, ya fuera por acción directa sobre los $RGABA_A$ de la médula espinal o bien por un efecto indirecto sobre la activación de las vías descendentes (Nadeson y Goodchild 2000). Además, la alfadolona ha demostrado potenciar el efecto analgésico de los opioides, sin generar un efecto sedante alguno en ratas (Winter y cols. 2003). A pesar de dichos estudios, existe cierta controversia en cuanto al efecto antinociceptivo de la alfaxalona, ya que investigaciones llevadas a cabo en ratas mediante el uso de la prueba de la formalina demuestran que podía inducir analgesia dosis - dependiente de carácter preventivo y temporal (en torno a 15 minutos) asociado a una acción directa sobre el $RGABA_A$ (Gilron y Coderre 1996). Además, en estudios *in vitro* realizados sobre células bovinas cultivadas a partir de médula adrenal, se demostró que la alfaxalona es capaz de inhibir el transporte de norepinefrina, neurotransmisor modulador de la percepción del dolor, mediante un bloqueo de los lugares de reconocimiento de unión de la desipramina y la norepinefrina (Horishita y cols. 2002).

Sistema cardiovascular

A nivel cardiovascular, existen estudios previos realizados en perros que describen un incremento de la frecuencia cardíaca (FC) tras la inducción endovenosa con alfaxalona, dependiente de la dosis, y que suele tener carácter temporal (Whittem y cols. 2004; Muir y Lerche 2004; Muir y cols. 2004, 2008; Schnell y cols. 2004; Pasloske y cols. 2005; Psatha y cols. 2011; Amengual y cols. 2013). Este aumento de la FC se explicaría como un mecanismo compensatorio para mantener estable el índice cardíaco (Ambros y cols. 2008; Rodriguezy cols. 2012). En la especie equina, el uso de alfaxalona no produce cambios en el latido cardíaco (Leece y cols. 2009, Klöppel y Leece 2010, Goodwin y cols. 2012, Keates y cols. 2012). No obstante, en los animales de granja estos cambios dependen en su mayoría de la especie estudiada, así no se describen alteraciones en el cerdo (Santos González y cols. 2013), mientras que sí existe un aumento de la FC en pequeños rumiantes (Granados y cols. 2012; Dzikiti y cols. 2014). En conejos esta respuesta presenta un carácter variable, de modo que la inducción con alfaxalona puede llegar a derivar en una disminución de la FC, o bien mantenerse en valores clínicamente aceptables (Grint y cols. 2008, Marsh y cols. 2009, Gil y cols. 2012, Tutunaru y cols. 2014, Navarrete Calvo y cols. 2014, Huynh y cols. 2015). En la especie felina, se ha demostrado que independientemente de la ruta de administración, la FC suele descender de manera dosis - dependiente durante un periodo de unos 15 minutos tras la inducción con alfaxalona, y que luego se mantiene en valores clínicos estables a lo largo del mantenimiento anestésico (Pasloske y Whittem 2004; Heit y cols. 2005; Muir y cols. 2005, 2009; Whittem y cols. 2008; Martínez y Murison 2010; Bosing y cols. 2012; Ramoo y cols. 2013; Ribas y cols. 2014; Tamura y cols. 2015b).

A nivel de presión arterial, el uso de alfaxalona en el perro puede no generar un efecto adverso, o bien producir un descenso dosis - dependiente (Muir y Lerche 2004, Whittem y Pasloske 2004, Schnell y cols. 2004, Pasloske y cols. 2005, Muir y cols. 2008, Psatha y cols. 2011, Morgaz y cols. 2012, Okushima y cols. 2014). Ambros y cols. (2008) asociaron el descenso de la presión arterial en perros después de la inducción con alfaxalona, con un descenso de la resistencia vascular sistémica ya que el gasto cardíaco se mantuvo estable. Se ha podido comprobar que en el conejo la administración de alfaxalona produce un acusado descenso en la presión sanguínea (Navarrete Calvo y cols. 2012). Por su parte, en el caballo y especie caprina y ovina este efecto es mínimo o nulo (Keates y cols. 2012, Goodwin y cols. 2013, Andaluz y cols. 2013, Granados y cols. 2012, Moll y cols. 2013, Ndawana y cols. 2014). En comparación con el resto de especies, en el gato se describe una disminución transitoria de la presión arterial tras la inducción con alfaxalona, con un retorno a valores normales durante el mantenimiento anestésico (Whittem y cols., 2008, Martínez Taboada y cols. 2009, Beths y cols. 2014). Este efecto se asocia en gatos a un efecto derivado de la vasodilatación, existiendo mayor riesgo de producirse en animales menores de 12 meses (69 a 85%) y tras un uso de dosis más elevadas (15 mg/kg) (Muir y cols. 2009, Zaki y cols. 2009).

Sistema respiratorio

A nivel respiratorio, se describe la disminución de la frecuencia respiratoria (f_R), presión arterial de oxígeno y un aumento del dióxido de carbono en sangre arterial en perros tras la inducción y/o mantenimiento con alfaxalona (Muir y cols. 2004, Pasloske y cols. 2005, Rodríguez y cols 2012, Maney y cols. 2013). Aumentos en la dosis o una mayor rapidez en la administración no sólo puede generar una mayor probabilidad de

aparición de los efectos mencionados, sino que además aumenta la incidencia de apnea (ausencia de respiración durante 30 a 60 segundos) (Muir y cols. 2004, 2008; Pasloske y cols. 2005; Keates y Whittem 2012; Amengual y cols. 2013). La administración de alfaxalona en ponis produce incrementos de la f_R (Leece y cols. 2009), aunque en potros y caballos adultos se puede producir una reducción del número de respiraciones por minuto e hipoxemia (Goodwin y cols., 2012, Keates y cols. 2012). En el cerdo y en pequeños rumiantes no se describen efectos adversos a nivel del sistema respiratorio, mientras que en conejos se describen con mayor frecuencia el desarrollo de apnea e hipoxemia severa tras la administración endovenosa e intramuscular de alfaxalona (Keates 2003, Grint y cols. 2008, Gil y cols. 2012, Walsh y cols. 2012, Andaluz y cols. 2012, Santos González y cols. 2013, Tutunaru y cols., 2013, Huynh y cols. 2014, Dzikiti y cols. 2014, Ndawana y cols. 2014).En gatos se ha demostrado que la inducción con alfaxalona, apenas produce una ligera disminución de la f_R acompañada de un aumento del volumen tidal, posiblemente como mecanismo compensatorio, así como una reducción moderada de la presión arterial de oxígeno (PaO_2) sin cambios en las presiones arteriales de dióxido de carbono ($PaCO_2$) (Heit y cols. 2004, Whittem y cols. 2008, Muir y cols. 2009, Beths y cols. 2014). En cuanto a la incidencia de aparición de apnea en gatos, existen resultados contradictorios, puesto que se describe en un grado muy variable. Algunos autores afirman que no se producen (Whittem y cols. 2008, Martínez y Murison 2010, Beths y cols. 2014), mientras que otros apuntan a unas incidencias en un 19.3% de gatos adultos (Pasloske y cols. 2007) e inferiores a un 6% en gatos menores de 12 meses (Zaki y cols. 2009).

2.1.3. Características Farmacocinéticas

Estudios farmacocinéticos realizados en ratas y gatos han demostrado que la alfaxalona sigue un modelo bicompartimental no lineal (Visser y cols. 2002, Whittem y cols. 2008). El modelo bicompartimental supone que el fármaco, una vez que se encuentra en la circulación general, se distribuye de forma muy rápida a ciertas zonas del organismo (englobados en el compartimento central) de tal forma que el equilibrio de distribución entre la sangre y dichas zonas se alcanza de forma prácticamente instantánea y que, además, el fármaco se distribuye de forma más lenta a otros tejidos del compartimento periférico. El equilibrio de distribución entre el compartimento central, y los órganos y tejidos (que constituyen el compartimento periférico) tarda un cierto tiempo (exististiendo una distribución dinámica). Estos tejidos a los cuales se accede de forma más lenta, se engloban dentro de un compartimento denominado compartimento periférico. La farmacocinética no lineal es aquella en que la absorción, distribución, metabolismo o la eliminación (ADME) de un fármaco no obedece a procesos de primer orden. La interpretación de un modelo no lineal es que los efectos y la persistencia del fármaco no son predecibles cuando se usan diferentes dosis.

Absorción

El uso endovenoso de dosis clínicas y supraclínicas de alfaxalona ha demostrado producir una inducción anestésica rápida (en menos de un minuto) con una buena relajación muscular y pérdida de la conciencia en perros (Ferré y cols. 2006), gatos (Whittem y cols. 2008) y ratas (Lau y cols. 2013).

En la literatura revisada acerca de la absorción intramuscular de alfaxalona, se pueden encontrar resultados mucho más variables en comparación a la administración endovenosa. En animales exóticos, la alfaxalona utilizada como agente único puede generar desde una sedación hasta una anestesia de corta duración (Kischinovsky y cols. 2013, Giral y cols. 2014, Huynh y col. 2015). Por su parte, en la especie canina se ha observado que el efecto sedante y/o anestésico de la alfaxalona mediante la vía intramuscular es de carácter dosis - dependiente (Tamura y cols. 2015a), mientras que en el gato sólo induce una sedación profunda (Tamura y cols. 2015b).

Heit y cols. (2004) estudiaron la administración subcutánea de alfaxalona (10 mg/kg) en gatos premedicados con acepromacina a dosis de 1.1 mg/kg por vía intramuscular, concluyendo que esta combinación generaba una sedación profunda y segura, pero que era insuficiente para inducir una anestesia.

Finalmente, el uso intraperitoneal de alfaxalona (2 y 5 mg/kg) en ratas genera unos niveles sustanciales de alfaxalona (incluso hasta 60 minutos tras la administración), no produce apnea y los tiempos son más prolongados en comparación a la ruta endovenosa de las mismas dosis, pero con un resultado variable en cuanto a la inmovilización de los animales (sólo se produjo en el 70% de los individuos de experimentación) (Lau y cols. 2013).

Distribución

La alfaxalona tiene una distribución rápida y uniforme en todos los tejidos, a excepción de presentar una acumulación menor a nivel de la grasa y tejido cerebral (Pastorino y cols. 1979). Además, se ha podido hipotetizar que los pulmones puedan

presentar una función de tejido reservorio para parte de la dosis administrada de la alfaxalona (Nicholas y cols.1981).

Animal	Volumen Distribución (L/kg)	Tiempo de Vida Media (minutos)	Aclaramiento (ml/kg/min)	Referencia
Rata	0.8	14	71.9	Visser y cols. 2002
		16.2	57.8	Lau y cols. 2013
		17.6	54.3	
Perro	2	30	55	Ferré y cols. 2006
	2.4	34.5	48.5	Pasloske y cols. 2009
Gato	1.8	45.2	25	Whittem y cols. 2008
	2.1	76.6		
Caballo	1.6	45.2	37	Goodwin y cols. 2011
Potro (12±3 d)	0.6	22.8	19.9	Goodwin y cols. 2012

Tabla 1. Propiedades farmacocinéticas de la alfaxalona en diferentes especies

Los parámetros farmacocinéticos que definen la distribución y eliminación de la alfaxalona son diferentes dependiendo de la especie de estudio (Tabla 1). Se ha podido comprobar que el volumen de distribución de la alfaxalona aumenta con la edad debido a su carácter lipofílico y a la elevada proporción lípido:agua encontrada en animales geriátricos (Goodwin y cols. 2012). Tanto las diferencias entre sexos, así como el uso de

ciclodextrinas como excipiente, no tienen influencia sobre las características farmacocinéticas de la alfaxalona (Visser y cols. 2002, Ferré y cols. 2006). Además, la elevada unión a proteínas plasmáticas (97%) no es dependiente ni de la dosis, la concentración o, ni tan siquiera, del tiempo (Visser y cols. 2002).

Metabolismo

Tras comprobar que los resultados de los valores del aclaramiento de la alfaxalona en gatos son altos, se ha podido concluir que su metabolismo presenta un carácter rápido (Whittem y cols. 2008). En estudios realizados *in vitro* en muestras de hepatocitos y microsomas aislados de ratas se demostró que la alfaxalona es metabolizada mediante el sistema hepático de oxigenasas de función mixta (Sear y Mc Givan 1981) (Figura 2). Tanto en el perro como en el gato, los sistemas enzimáticos de fase I (citocromo P450) y fase II (glucuro y sulfato conjugación) son los responsables del metabolismo de la alfaxalona (Warne y cols. 2015). Sin embargo, se evidenció que los pulmones de ratas también pueden ejercer una función metabólica para una cierta cantidad de alfaxalona, liberando posteriormente los metabolitos al torrente sanguíneo (Nicholas y cols. 1981). Además, se ha especulado de la existencia de metabolismo a nivel renal y cerebral como otros mecanismos para la eliminación de este fármaco (Holly y cols. 1981, Sear 1996, Celotti y cols. 1997, Hiroi y cols. 2001, Ferre y cols. 2006).

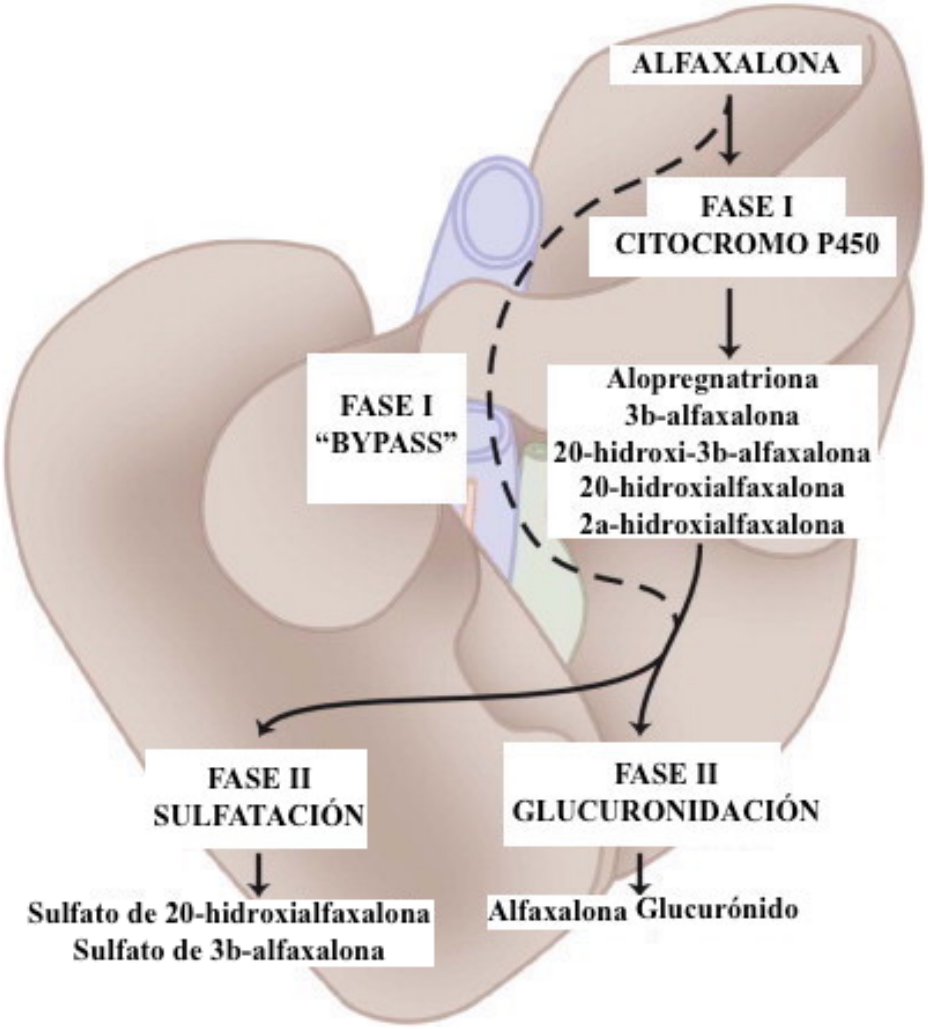


Figura 2. Metabolismo hepático de la alfaxalona (Warne y cols. 2015)

Una de las peculiaridades farmacocinéticas que presenta la alfaxalona es el denominado efecto "rebote" demostrado en perros, gatos y caballos (Ferré y cols. 2006; Whittem y cols. 2008; Goodwin y cols. 2011, 2012). Su origen no está totalmente aclarado, aunque existen varias explicaciones: (a) los pulmones podrían ser capaces de almacenar una pequeña cantidad de la alfaxalona administrada que podría, posteriormente, liberarse a la circulación (Nicholas y cols. 1981); (b) el tejido muscular podría secuestrar la alfaxalona, y tras cambios en el flujo sanguíneo y gasto cardíaco, podría ser descargada al torrente sanguíneo (Ferré y cols. 2006); (c) podría existir una superimposición de un pequeño pico originado por el metabolito isomérico 3β – OH -

alfaxalona, que no se distiguiría de modo diferencial en las determinaciones analíticas empleadas (Whittem y cols. 2008).

Eliminación

Varios estudios realizados en la especie humana y en ratas han demostrado que los metabolitos de la alfaxalona son excretados principalmente en la orina, aunque una cantidad menor también puede detectarse en la bilis (Strunin y cols. 1977, Sear 1996).

Seguridad

El índice terapéutico se define como la relación de la dosis del fármaco necesaria para inducir la muerte en el 50% de los animales a los que se administra el fármaco en relación con la dosis de fármaco necesaria para inducir el efecto deseado en 50% de los animales a que se administra. El índice terapéutico para la alfaxalona en gatos aún no se ha establecido; sin embargo, en ratones y ratas, el índice terapéutico para el CT 1341 era de 30.4 y 28.7 respectivamente (Davis y Pearce 1972, Hogskilde y cols. 1987). Cuanto más alto es el índice terapéutico, más seguro se considera un farmaco. Sin embargo, el índice terapéutico no tiene en cuenta la pendiente de la curva de la concentración frente a la respuesta. Un fármaco con un índice terapéutico razonable, pero un gradiente bajo, puede tener un efecto en el 90% de los animales a los que se administra cerca de la dosis letal 50, disminuyendo el margen de seguridad del fármaco. Por lo tanto, el índice terapéutico no siempre es útil como una medida de seguridad clínica de un fármaco.

Según la información que aporta el distribuidor de Alfaxan® (alfaxalona) (Jurox®), es posible realizar un uso de una dosis de alfaxalona de hasta 5 veces superior a la recomendada para la inducción anestésica (25 mg/kg) en gatos, y hasta de 10 veces (20 mg/kg) en perros. Sin embargo, se ha comprobado que la administración

endovenosa de dosis elevadas (15 y 25 mg/kg) de alfaxalona en gatos produce depresión a nivel hemodinámico, mayor incidencia de apnea e, incluso, puede producir muerte súbita (Muir y cols. 2008, 2009). El uso de alfaxalona en perros a dosis elevadas (20 mg/kg) parece ser seguro y sólo se describen alteraciones mínimas a nivel cardiorespiratorio.

2.1.4. Uso Práctico

Crecimiento Microbiano

Un estudio comparativo acerca del crecimiento microbiano entre el tiopental, el propofol y la alfaxalona concluyó que el propofol presentaba una mayor predisposición para eldesarrollode ciertos microorganismos en comparación con la alfaxalona y que era el tiopental el único anestésico inyectable de los tres en estudio que demostró tener propiedades bactericidas (Strachan y cols. 2008)

Rutas de administración

En los años 70, la combinación de alfadolona y alfaxalona, denominada CT 1341, demostró poseer buenas propiedades como sedante y anestésico tras su administración intramuscular en gatos y titíes (Evans y cols. 1972, Box y Ellis 1973, Phillips y Grist 1975, Evans 1975, Jones 1979). Recientemente, se dispone de estudios realizados en perros, gatos, conejos, cerdos y animales exóticos que demuestran la eficacia como agente sedante y/o anestésico de la alfaxalona sola o bien en combinación con otros fármacos tras una administración intramuscular (Marsh y cols. 2009; Bertelsen y cols. 2011; Bouts y cols. 2011; Thomas y cols. 2012; Kischinovsky y cols.

2013; Bakker y cols. 2013; Grubb y cols. 2013; Hansen y Bertelsen 2013; Ribas y cols. 2014; Tamura y cols. 2015a, 2015b; Huynh y cols. 2014; Martín Santos y cols. 2015).

Heit y cols. (2004) ya observaron que la alfaxalona si se administra subcutáneamente a dosis de 10 mg/kg puede ejercer un efecto sedante en gatos premedicados con acepromacina. Además, dicha vía de administración ha demostrado ser útil y estable como método de sedación en gatos hipertiroideos que recibían una combinación de alfaxalona (3 mg/kg) y butorfanol (0.2 mg/kg) (Ramoo y cols. 2013)

El desarrollo de las ciclodextrinas como excipiente en la nueva formulación de la alfaxalona ha resultado estar asociada a un menor dolor a la inyección endovenosa, así como a menor riesgo de tromboflebitis y hemolisis, además de no interferir en los estudios farmacodinámicos o farmacocinéticos de este anestésico (Doenicke y cols. 1994). En un estudio comparativo realizado en perros tras la administración endovenosade alfaxalona y propofol, los autores llegaron a la conclusión que la alfaxalona no producía ningún tipo de dolor o reacción tras su inyección (Michou y cols. 2012). Además, la alfaxalona administrada de manera intravenosa produceuna inducción rápida de la anestesia, acompañada de una relajación muscular excelente durante la fase de mantenimiento y con apenas efectos adversos sobre los parámetros hemodinámicos o durante la recuperación (Muir y cols. 2008, 2009).

Infusión contínua

La administración en infusión continua de alfaxalona como mantenimiento de la anestesia ha demostrado ser satisfactoria, fiable, adecuada y sin apenas producir complicaciones en perros sanos (Ambros y cols. 2008). La posibilidad de hipoventilación ha sido el único efecto adverso descrito en la especie canina, por lo que

algunos autores recomiendan de la aplicación de técnicas de soporte ventilatorio en situaciones de períodos prolongados bajo anestesia total endovenosa con alfaxalona (Suarez y cols. 2012, Herbert y cols. 2012). En pequeños rumiantes, el mantenimiento anestésico gracias al uso de alfaxalona en infusión continua demuestra ser fiable y no genera alteración destacable a nivel del sistema cardiorrespiratorio, aunque es recomendable también la suplementación con oxígeno y un uso de ventilación mecánica como soporte ventilatorio (Moll y cols. 2013, Ndawana y cols. 2014). Además, se ha demostrado en ovejas que el uso combinado de la alfaxalona durante una anestesia general ayuda a reducir los requerimientos del desflurano como agente anestésico inhalatorio (Granados y cols. 2012). En gatos, la alfaxalona administrada como anestésico inyectable para mantenimiento de una anestesia total endovenosa ha demostrado ser una técnica totalmente efectiva, con una menor influencia o efecto a niveldel sistema respiratorio y proporcionando una recuperación suave y de corta duración (Vettorato 2013, Beths y cols. 2014, Schwarz y cols. 2014, Campagna y cols. 2015).

2.2. *DEXMEDETOMIDINA*

2.2.1. *Introducción*

La dexmedetomidina (Figura 3) es un agonista α_2 de los receptores adrenérgicos altamente selectivo, específico y potente. Varios estudios han demostrado que es la forma estereoisomera dextro, el componente farmacológicamente activo de la medetomidina por lo que es utilizada ampliamente en clínica veterinaria por sus efectos sedantes, analgésicos e hipnóticos (Peden y Prys-Roberts 1992). La dexmedetomidina presenta un ratio de especifidad α_1:α_2 de 1600:1, que es en torno de 7 a 8 veces más elevado que el de la clonidina (Virtanen y cols. 1988).

En 1999, la dexmedetomidina fue aprobada por la FDA (Food and Drug Administration) para su uso como sedante en cuidados intensivos en medicina humana (Bajwa y Kulshrestha 2013). En Octubre de 2008, además recibió la aprobación de la FDA como fármaco para el cuidado de la anestesia monitorizada en adultos. Actualmente, en Europa se ha permitido el uso de la dexmedetomidina como sedante en pacientes adultos ingresados en cuidados intensivos y que requieren un nivel de sedación más profundo que la simple excitación en respuesta a un estímulo verbal (Zhang y cols. 2015).

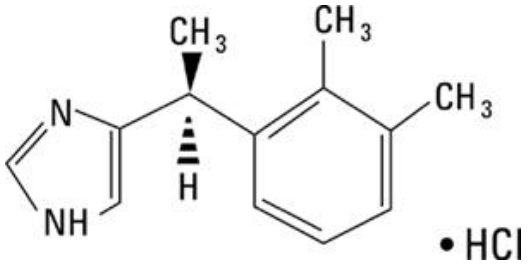


Figura 3. Estructura molecular de la dexmedetomidina.

La dexmedetomidina ejerce su función uniéndose a proteínas G asociadas a receptores adrenérgicos, que se encuentran localizadas principalmente en los sistemas nerviosos central, periférico y autonómo, así como en varios órganos y a nivel de los vasos sanguíneos (Bajwa y Kulshrestha 2013). Aunque no se ha determinado exactamente los mecanismos efectores tras su unión a proteínas G, las consecuencias más importantes de la estimulación de los receptores α_2 son una inhibición de la adenilciclasa (menor formación de AMP cíclico), una activación de los canales iónicos del potasio (hiperpolarización neuronal) y una inhibición de la entrada de calcio a través de los canales iónicos (Murrell y Hellebrekers 2005, Carollo y cols. 2008).

2.2.2. Propiedades Clínicas

Nocicepción

A nivel de los receptores adrenérgicos podemos encontrar tres subtipos diferentes (α_2 A, α_2 B y α_2 C), presentando cada uno de ellos distintas funciones y acciones (Bylund 1985, Daunt y Steffey 2002). La dexmedetomidina posee una mayor afinidad por los subtipos α_2 A y α_2 C, los cuales son los receptores localizados a nivel de la lamina II del asta dorsal de la médula espinaly responsables de los efectos analgésicos mediante la inhibición de la liberación de neurotransmisores (sustancia P y glutamato), además deser capaces de producir una hiperpolarización de las interneuronas espinales (Ishii y cols. 2008). Así mismo, es posible que dicho efecto antinociceptivo también pueda deberse a la influencia sobre los sistemas moduladores descendientes iniciados desde el tronco del encéfalo o bien por alteración de la modulación ascendente de señales nociceptivas a niveldel diencéfalo y zona límbica, aunque ambas teorías aún no han sido del todo esclarecidas (Murrel y Hellebrekers 2005).

Efecto hipnótico

Gracias a su elevada selectividad por los receptores α_2 adrenérgicos, se ha demostrado que el efecto hipnótico de la dexmedetomidina se ejerce a nivel del *locus coeruleus* (LC), situado a niveldel tronco del encéfalo (Doze y cols. 1989,Correa-Sales y cols. 1992, Mizobe y cols. 1996, Bajwa y Kulshrestha 2013). En muestras de LC de ratas se ha observado *in vitro* que tras una exposición a la dexmedetomidina se produce una hiperpolarización debido al aumento en la conductibilidad del potasio y una consecuente depresión de la excitabilidad neuronal (Nicoll y Madison 1982). Además, el efecto hipnótico de la dexmedetomidina puede verse afectado por la modulación del movimiento del calcio a través de la membrana celular a nivel del SNC, debido a que se ha demostrado que un uso de bloqueantes de los canales del calcio durante la administración de dexmedetomidina desarrollaba un mayor efecto hipnótico en ratas (Horvath y cols. 1992). Aunque se ha comprobado que un incremento de la dosis de dexmedetomidina puede generar un aumento de la hipnosis en conejos, en la especie porcina se ha hallado recientemente un efecto “techo” (un incremento en la dosis no produce un mayor efectosedante) tras el uso de una mayor dosis de dexmedetomidina administrada en infusión contínua (Zornow 1991, Sano y cols. 2010).

Sistema cardiovascular

Los agonistas de receptores α_2 adrenérgicos ejercen su acción a nivel de tronco del encéfalo y núcleos medulares, así como en el hipotálamo, para disminuir la actividad del sistema nervioso simpático. Además, inhiben la liberación de norepinefrina en las terminaciones periféricas de los nervios simpáticos gracias a la activación de los receptores α_2 inhibitorios (Timmermans y Van Zwieten 1982). El efecto que ejerce la dexmedetomidina sobre el sistema cardiovascular presenta un

carácter bifásico. Inicialmente existe un incremento ligero de la presión sanguínea debido al efecto vasoconstrictor tras la activación de los receptores α_2 adrenérgicos localizados en la postsinapsis de la musculatura vascular lisa (subtipo α_2 B), el cual deriva en una estimulación de los barorreceptores y, consecuentemente, el desarrollo de una bradicardia refleja. Seguidamente, se produce una reducción de la presión sanguínea debido al efecto periférico sobre los receptores α_2 adrenérgicos y a su acción a nivel central sobre los centros reguladores del tronco del encéfalo (reducción del flujo simpático), contribuyendo a la disminución de la liberación de catecolaminas (norepinefrina, epinefrina) (Kallio y cols. 1989, Bloor y cols. 1992, Bajwa y Kulshrestha 2013).

Sistema respiratorio

El mecanismo del efecto de la dexmedetomidina sobre el sistema respiratorio no está totalmente aclarado (Nishida y cols. 2002). Al existir evidencias de que las neuronas encargadas de la función respiratoria y localizadas a nivel del tronco del encéfalo presentan una modulación inhibitoria debida, en parte, a receptores α_2 adrenérgicos y *mu* opioides, era posible especular que ambos sistemas actuasen de manera similar. No obstante, esta teoría fue rebatida por Sabbe y cols. (1994), ya que después de administrar dexmedetomidina en la cisterna magna observaron que no se producía ningún tipo de depresión respiratoria o somnolencia, como ya había sido descrito en otros estudios realizados anteriormente en perros. Estos autores sugirieron que los α_2 agonistas adrenérgicos realizan su efecto sobre la respiración a nivel caudal a la cisterna magna y que la depresión respiratoria observada era debida más a un efecto a nivel sistémico que posiblemente por una redistribución espinal (Sabbe y cols. 1994). En los seres vivos, el uso de la dexmedetomidina genera una depresión respiratoria

acompañada de una disminución de la frecuencia respiratoria, una menor respuesta al dióxido de carbono e hipercapnia e hipoxemia moderadas, que normalmente va asociada al efecto sedante del fármaco (Zornow 1991, Belleville y cols. 1992, Sabbe y cols. 1994, Bol y cols. 1997, Nishida y cols. 2002, Bettschart-Wolfensberger y cols. 2005, Tamiya y cols. 2014). Sin embargo, hay cierta controversia sobre la depresión respiratoria, pues Nguyen y cols. (1992) reportaron en un estudio realizado en perros una mejora de la ventilación tras un incremento en la dosis de dexmedetomidina sin efecto alguno sobre la respuesta al dióxido de carbono. Previamente a este estudio, ya se había demostrado en ratas que la dexmedetomidina no tenía efecto alguno sobre la respiración, ya fuera debido a una menor producción de dióxido de carbono o bien por una mejora en la complianza de la cavidad torácica (Furst y Weinger 1990).

2.2.3. Dexmedetomidina en combinación con Alfaxalona

El uso combinado de la alfaxalona con agonistas de los receptores α_2 adrenérgicos ha sido estudiado con anterioridad en las diferentes especies. La administración conjunta de medetomidina con alfaxalona en infusión contínua es aplicable a potros para mantener una anestesia en condiciones de campo, aunque los autores recomiendan suplementar con oxígeno (10 L/min) para prevenir el desarrollo de hipoxemia (Goodwin y cols. 2013). Hansen y Bertelsen (2013) comprobaron en tortugas que la inyección intramuscular de medetomidina en combinación con alfaxalona resultaba en un mayor efecto sedante y una anestesia más prolongada, así como una reducción en la sensación nociceptiva periférica en comparación con protocolos en los que sólo se administraba la alfaxalona. En hurones, el efecto analgésico de la alfaxalona

no sólo se ve potenciado con el uso de medetomidina, sino que además permite reducir la dosis del anestésico, generando una estado compatible con una anestesia para procedimientos de corta o media duración (Giral y cols. 2014).

En perros, la administración de dexmedetomidina, en comparación con acepromacina o metadona como fármacos para la fase de premedicación, favorece el uso de una dosis menor de alfaxalonadurante lainducción, además de generar una disminución de la respuesta en el paciente tras la aplicación del estímulo quirúrgico (Herbert y cols. 2012, Pinelas y cols. 2013). Asimismo, el uso de dexmedetomidina en infusión contínua junto a la alfaxalona, como protocolo de anestesia totalmente endovenosa en perros, genera un plano anestésico fiable con una mayor calidad de la recuperación y sin prolongar el tiempo de la misma (Carmona y cols. 2014). La combinación de alfaxalona con dexmedetomidina y butorfanol en gatos se caracteriza por producir una anestesia general de acción rápida y sin complicaciones que es recomendada, según los autores, para procedimientos quirúrgicos menores en gatos (Adami y cols. 2015). Sin embargo, en cerdos se ha observado que cuando la dexmedetomidina se administra intramuscular con alfaxalona sólo produce un estado de sedación, el cual es mucho más potente y con menos excitación en comparación con el uso de ketamina como agente anestésico (Santos y cols. 2015).

3.MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Experiencia 1: Efecto clínico de la inyección intramuscular de alfaxalona sola o en combinación con dexmedetomidina

Este estudio fue aprobado por el Comité Institucional Local de Ética y Bienestar Animal de la Universidad de Murcia, España. Un total de 7 gatos experimentales adultos (4 machos y 3 hembras) con un peso de 3.5 ± 0.7 kg (media ± DE) (rango 3.1 – 4.5) y una edad de 3.8 ± 0.9 años (rango 2.5 – 5) fueron utilizados en la experiencia 1. Los gatos se encontraban sanos sobre la base de un análisis preanestésico exhaustivo, el cual incluía un examen físico y pruebas laboratoriales (hematología y bioquímica). Los gatos se alojaron en jaulas diferentes en una habitación aislada y fueron alimentados con una dieta comercial estándar. Se realizó un ayuno de comida de 12 horas previo al dia del experimento aunque se mantuvieron con libre acceso a agua. La mañana de las experiencias, se realizó una reevaluación de su estado físico.

Se realizó un test de potencia con el fin de determinar el número mínimo de gatos a emplear. Se consideró que para detectar diferencias estadísticamente significativas asumiendo un tiempo medio de 100 minutos y una desviación estándar de 50 minutos para el parámetro “tiempo de levantar la cabeza durante la recuperación (LH)”, con un nivel de significación del 5% y un poder del 90%, se requerían siete gatos para cada uno de los grupos de tratamiento en esta fase del estudio.

3.1.1. Material

Los materiales y productos utilizados para la realización del presente trabajo, se relacionan a continuación:

3.1.1.1. Fungible

- Agujas hipodérmicas.
- Jeringa Omnifix 5 mL; B Braun Medical, España.
- 20G y 24G Cateter Vasofix Braun®.

3.1.1.2. Productos

- Alfaxan 10 mg/mL; Vétoquinol, Francia.
- Dexdomitor 0.5 mg/mL; Esteve, España.
- Solución de cloruro sódico 0.9% (B Braun Medical).

3.1.1.3. Aparatos

- Fórceps hemostático Kelly.
- Fonendoscopio Littmann Classic II S.E, 3M, España.
- Electrocardiograma Cardiocap II; Datex-Ohmeda, Finlandia.
- Doppler Ultrasonic Doppler flow detector; Model 811-BL; Parks Medical Electronics Inc., OR, EEUU.
- PulsioxímetroHeskaVetOx 4404; Sensor Devices Inc., WI, EEUU.
- Monitor Vet/cap 7000; Sensor DevicesInc®.

3.1.2. Método experimental

El estudio se diseñó como una experiencia ciega, para ello, los gatos se distribuyeron al azar por un método de asignación por lotería. Para evitar interferencias entre los estudios, se estableció un período de descanso entre cada experiencia realizada en un mismo animal de almenos 15 días.

Los animales se distribuyeron en tres grupos experimentales para recibir los siguientes tratamientos:

- Grupo A_5 recibió alfaxalona por vía intramuscular a dosis de 5 mg/kg (Alfaxan 10 mg/mL; Vétoquinol, Francia).
- Grupo $D_{20}A_5$ recibió una combinación de dexmedetomidina a 20 μg/kg (Dexdomitor 0.5 mg/mL; Esteve, España) y alfaxalona a 5 mg/kg por vía intramuscular .
- Grupo $D_{40}A_5$ recibió una combinación de dexmedetomidina a 40 μg/kg y alfaxalona a 5 mg/kg por vía intramuscular.

Todos los fármacos fueron mezclados en la misma jeringa (Omnifix 5 mL; B Braun Medical, España) y diluidos hasta un volumen total de 3 mL con una solución decloruro sódico 0.9% (B Braun Medical). Todas las inyecciones se realizarón lentamente a nivel de los músculos epaxiales lumbares. Un único observador (DR) fue el encargado de realizar la recogida de datos, el cual tenía conocimiento acerca de los métodos clínicos y los sistemas de puntuación empleados en dicha experiencia pero que desconocía el tratamiento administrado.

Tras la administración de los tratamientos (tiempo cero, t0), los gatos fueron colocados en una habitación aislada y tranquila, sin ningún tipo de distracción o estímulo. Los niveles de sedación y/o anaestesia fueron evaluados en base a una escala numérica modificada (Young y cols. 1990), obtenida mediante la suma de los valores de seis parámetros independientes (Tabla 2). La respuesta al sonido se realizó mediante el choque de las dos manos cerca de las orejas de los gatos. El grado de la relajación muscular se evaluó de manera subjetiva por medio de la flexión y extensión de los miembros torácicos. El reflejo palpebral se valoró tras presionar gentilmente el canto medial del ojo. El estímulo nociceptivo se realizó gracias al cierre de un hemostato acolchado (fórceps hemostático Kelly) en uno de los dedos de los miembros posteriores. La presión aplicada se aumentó de manera gradual hasta que el animal mostraba un reflejo de retirada o bien hasta cerrar con el primer cierre del fórceps (tiempo máximo de aplicación fueron 3 segundos). Basándose en la puntuación total obtenida de estos parámetros, la sedación fue clasificada como pobre (puntuación de 0 - 3), media (4 - 6), moderada (7 - 10) o profunda (11 - 15). Se obtuvo una puntuación a los 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120 y 150 minutos tras la administración de los fármacos. Durante esta fase experimental, se realizarón intentos de intubación orotraquealen aquellos gatos que mostraban una disminución del tono muscular y con una sedación con un valor mayor a 11. Se clasificó como un estado de anestesia general cuando el nivel de sedación y/o anestesia alcanzaba un resultado por encima de 15 y había sido posible realizar la intubación de la traquea en el individuo.

Tabla 2. Escala numérica modificada (Young y cols. 1990) (rango de 0 = valor bajo hasta 4 = valor alto) de seis parámetros independientes utilizados para la puntuación del grado de sedación y/o anestesia tras la administración intramuscular de alfaxalona sola o en combinación con dexmedetomidina en gatos. La sedación se consideró pobre (puntuación total 0 – 3), media (puntuación total 4 – 6), moderada (puntuación total 7 – 10) y profunda (puntuación total 11 – 15). Valores > 15 en gatos que pudieron ser intubados se considero como un estado compatible con anestesia general.

PARÁMETRO	RESPUESTA	VALOR
Posición	Se mantiene en pie y camina	0
	Sedado, pero se mantiene en pie	1
	Tumbado, pero reacciona rápidamente para levantarse	2
	Tumbado, pero rección lenta para levantarse	3
	Tumbado, incapaz de levantarse	4
Resistencia a la posición lateral	Fuerte	0
	Moderada	1
	Leve	2
	No hay resistencia	3
Respuesta al sonido	Normal	0
	Escucha y se mueve	1
	Escucha y mueve solo orejas	2
	Respuesta mínima	3
	No hay respuesta	4
Relajación mandibular	No hay	0
	Moderada	1
	Completa	2
Reflejo palpebral	Normal	0
	Deprimido	1
	No hay reflejo	2
Respuesta al dolor	Normal (reflejo de retirada con la mínima presión del hemostato)	0
	Moderada (reflejo de retirada a mayor presión de cierre)	1
	Ligera (Reflejo de retirada con cierre completo hemostato y mantenido durante 3 segundos)	2
	Ausente	3

Los tiempos transcurridos desde la administración intramuscular de los tratamientos (t0) hasta que se adoptaban las posiciones de decúbito esternal (SRi) y lateral (LR), así como el tiempo de la intubación orotraqueal fueron anotados. La calidad de la intubación fue valorada subjetivamente como 0 (no es posible), 1 (intubación, reflejo laríngeo mínimo) o 2 (intubación, ausencia de reflejo laríngeo). Después de realizar la intubación, se registró el inicio del tiempo de anestesia quirúrgica (OA), el cual se calculó como el tiempo trascurrido desde t0 hasta que el animal no respondía a ningún estímulo nociceptivo. El final de la anestesia (AR) se estableció en el momento que el animal comenzaba a responder a la aplicación del estímulo doloroso. El tiempo comprendido entre OA y AR fue considerado como el tiempo de duración de la anestesia (AD). El tiempo de extubación (ET) se definió como el momento en el que el tubo endotraqueal se retiró tras observar un reflejo deglutorio positivo. Adicionalmente, los tiempos requeridos para levantar la cabeza (LH), alcanzar posición de decúbito esternal (SRr) y de levantada (ST) durante la fase de recuperación también fueron registrados. Todos los tiempos fueron determinados, como ya se apuntó, como el tiempo transcurrido desde la inyección de los fármacos (t0) hasta el momento en que ocurría el evento específico.

La frecuencia cardíaca (FC) fue determinada por auscultación directa del corazón mediante un fonendoscopio (Littmann Classic II S.E, 3M, España). Un electrocardiograma de tres derivaciones (lead II) se utilizó como método para monitorizar la actividad eléctrica del corazón y detectar posibles arritmias (Cardiocap II; Datex-Ohmeda, Finlandia). La presión arterial sistólica se midió gracias al uso del método no invasivo Doppler (Ultrasonic Doppler flow detector; Model 811-BL; Parks Medical Electronics Inc., OR, EEUU), en la arteria digital palmar común con una manguito pediátrico (2 cm) colocado a una distancia de 2 centímetros por encima del

carpo. La saturación arterial de oxígeno en la hemoglobina (SpO_2) se midió gracias a un pulsioxímetro y con la sonda colocada en un área no pigmentada y rasurada de la oreja (Heska VetOx 4404; Sensor Devices Inc., WI, EEUU). La tensión de dióxido de carbono al final de la espiración ($PE´CO_2$) y la frecuencia respiratoria (f_R) se mostrarón por medio de un analizador de gas (Monitor Vet/cap 7000; Sensor Devices Inc.). Además, la f_R se registró bajo observación directa de los movimientos torácicos en aquellos animales en los queno se pudo realizar la intubación. La temperatura rectal (Tª) también fue registrada. Todos estos parámetros se registraron a los 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120 y 150 minutos tras la administración de los fármacos.

Cualquier reacción adversa tal como salivación, emesis, micción, arritmias, rigidez muscular, hiperquinesis, hipertensión (definido como SAP > 160 mmHg) o hipotensión (SAP < 70 mmHg) fueron anotadas durante toda la fase experimental.

3.1.3. *Análisis estadístico*

Los datos se expresan como la media ± deviación estándar (X ± DE) y mediana (rango). Las pruebas estadísticas fueron realizados utilizando SPSS versión 15.0 (SPSS Inc., IL, USA).

La evaluación de la normalidad de los datos recogidos fue analizada mediante la evaluación de los estadísticos descriptivos, histogramas y el test Kolmogorov-Smirnov.

Para aquellos párametros distribuidos normalmente (FR, SAP, SpO_2, f_R, $PE´CO_2$, T°, SR, LR, OA, DA, RA, ET, LH, SR y SR), se utilizaron los análisis ANOVA de una vía con un test de Tukey *post-hoc*.

Las variables con una distribución no normal (calidad de la intubación y el nivel de sedación y/o anestesia) están expresados como la media y el rango y fueron analizados por medio de la prueba de Kruskal-Wallis. Cuando dicha prueba revelaba alguna diferencia estadísticamente significativa, se investigó una comparación dual gracias al test U de Mann–Whitney para dos muestras independientes.

Se consideró un valor de $p < 0,05$ para establecer diferencias estadísticamente significativas.

3.2. Experiencia 2: Estudio farmacocinético–farmacodinámico

Este estudio fue aprobado por el Comité Institucional Local de Ética y Bienestar Animal de la Universidad de Murcia, España. Un total de 5 gatos experimentales adultos (4 machos y 3 hembras) con un peso de 4.2 ± 0.5 kg (media ± DE) (rango 3.5 – 4.8) y una edad de 3.8 ± 0.9 años (rango 2.5 – 5) fueron utilizados en la experiencia 2. Los gatos se encontraban sanos sobre la base de un análisis preanestésico exhaustivo, el cual incluía un examen físico y pruebas laboratoriales (hematología y bioquímica). Los gatos se alojaron en jaulas diferentes en una habitación aislada y fueron alimentados con una dieta comercial estándar. Se realizó un ayuno de comida de 12 horas previo al dia del experimento aunque se mantuvieron con libre acceso a agua. La mañana de las experiencias, se realizó una reevaluación de su estado físico

3.2.1. Material

Los materiales y productos utilizados para la realización del presente trabajo, se relacionan a continuación:

3.2.1.1. Fungible

- Agujas hipodérmicas.
- 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 Gilson®.

- Puntas para micropipetas de varias capacidades.
- Matraces aforados de varias capacidades.
- Matraces Erlemmeyer de varias capacidades.
- Vasos de precipitado de varias capacidades.
- Viales con tapón para autoinyector 8 x 40, 1 mL, Wheaton, USA.
- Filtros Millipore® tipo HV 0.45 μm de diámetro de poro.
- Tubos Eppendorf 1.5 y 2 mL.

3.2.1.2. Productos y reactivos

- Agua bidestilada.
- Agua oxigenada.
- Clorhexidina solución (Desinclor®).
- Hidróxido sódico (Scharlau, Barcelona).
- Dansilhidrazina (Lote: BCBG7669V, Sigma Aldrich, Barcelona)
- Diclorometano (Scharlau, Barcelona).
- Tampón acetato de amonio (Fluka, Madrid).
- Heparina sódica 5% (ROVI).
- Acetonitrilo HPLC (Scharlau, Barcelona).
- Agua para HPLC (Scharlau, Barcelona).
- Alfaxan® (Vetoquinol, Ltd, España)
- Alfaxalona (British Pharmacopoeia Chemical Reference Substance, Batch 2191, London, UK)
- Pregnenolona (Lote 031M1880V, Sigma-Aldrich, Barcelona).

- *3.2.1.3. Aparatos*

- Agitador magnético SBS A-06.
- Agitador de tubos HeidolphReax 2000.
- Balanza de precisión Sartorius BP121S, pesada entre 0.0001 y 120 g.
- Centrífuga ALC modelo 4236.
- Congelador Sanyo MDF (- 45 ºC).
- SonicadorBranson 2200.
- Bomba de vacío y equipo de filtración Millipore®.
- Frigorífico Electrolux® modelo ER 3818C.
- Ordenador personal.
- pHmetroCrisonDigit 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 4-80º 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, Barcelona)
    - Precolumnas con la misma composición que la columna.

3.2.2 Método experimental

Se utilizó una preparación comercial de Alfaxalona (Alfaxan®,Vetoquinol, Ltd, España) reformulada y solubilizada con HPβCD. Todos nuestros animales se engoblaron en un estudio prospectivo, con conocimiento del fármaco a administrar y dividido en dos períodos. Los gatos fueron divididos en dos grupos en base a la ruta de administración del agente anéstésico y basado en un esquema cruzado:

- Grupo IV recibió alfaxalona intravenosa a una dosis de 5 mg/kg
- Grupo IM recibió alfaxalona intramuscular administrada a una dosis de 5 mg/kg.

Al menos dos horas previas a la realización de los experimentos y a modo de reducir el estrés debido al manejo del animal, se utilizaron una cámara de inducción y una máscarilla facial conectadas a un circuito anestésico T de Ayre para inducir y mantener una breve anestesia con sevoflurano con el fin de colocar un catéter (20G CateterVasofix Braun®) en la vena yugular, y disponer así de acceso venoso directo para extraer de manera repetida muestras de sangre del volumen adecuado. Además, se colocó un catéter (22G Catéter Vasofix Braun®) en la vena cefálica derecha.

El volumen total de la dosis de fármaco se administró vía intravenosa de forma manual a una velocidad constante durante 60 segundos, considerando el final del mismo como tiempo 0 (t0). La inyección intramuscular de alfaxalona se realizó lentamente (en torno a 1 minuto) en la musculatura epaxial (músculos lumbares dorsales) mientras un técnico sujetaba al animal entre sus brazos con el mínimo estrés. Toda la fase experimental fue realizada en una habitación aislada y a una temperatura ambiental constante.

Una vez la alfaxalona fue administrada (t0), los gatos se posicionaron sobre una manta colocada encima de una mesa. Tan rápido como el animal adoptaba una posición esternal (SRi) y después de haberse sentado (SiT), se realizaron varios intentos suaves de posicionarlo en decúbito lateral (LR) a intervalos regulares de 1 minuto. Además, los tiempos durante la fase de recuperación en levantar la cabeza (LH), posicionarse en decúbito esternal (SRr) y levantarse (ST) también fueron registrados de modo similar a lo realizado en la experiencia 1.

Para el estudio farmacocinético, las extracciones de sangre se tomaron a través de la vena yugular (en situación contralateral al lado de acceso cefálico, en el grupo IV) a los siguientes tiempos: blanco (anterior a la administración), 2, 4, 6, 8, 10, 15, 30, 45, 60, 120, 240, 360 y 480 minutos desde la administración del fármaco. Las muestras de sangre eran de un volumen de 1 mL, y se recogieron en jeringas heparinizadas, para posteriormente ser trasvasadas 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 y, por duplicado, a -70ºC hasta el momento de realizar las determinaciones analíticas.

Para el estudio farmacodinámico se utilizó de forma similar a la experiencia 1, una escala numérica modificada (Young y cols. 1990) realizada en base ala suma de los valores de los seis signos independientes para determinar el nivel de sedación y/o de anestesia alcanzado (Tabla 2). En base a esta escala y como ya se ha descrito, la sedación fue clasificada como pobre (puntuación 0 - 3), media (puntuación 4 - 6), moderada (puntuación 7 - 10) o profunda (puntuación 11 - 15). Las puntuaciones superiores a 15 se consideraron compatibles con un estado de anestesia si había sido posible realizar la intubaciónde la traquea en el individuo.

3.2.3. 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 y cols. (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, Kyoto, Japón). 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 alfaxolona del plasma, a 200 µL de plasma se le añadieron 10 µL del estandard interno (pregnenolona 50000 µg/L; Sigma, Barcelona, España), tras agitación se adicionaron 200 µL de acetonitrilo para provocar la precipitación de las proteínas de la muestra y se procedió a agitar de nuevo durante 30 s. Tras centrifugar a 3500 rpm durante 10 minutos, se recogió el sobrenadante y se transfirió a un tubo limpio al que se adicionaron 100 µL de solución de dansilhidrazina y 200 µL de NaOH 2M, agitándose la mezcla durante 30 s. Posteriormente se sometió de nuevo a centrifugación a 3500 rpm durante 60 s y se almacenó en condiciones de oscuridad y temperatura ambiental durante 20-24 h. A continuación se añadieron 2 mL de NaOH 1 M y 2 mL de diclorometano y se agitó durante 30 s, seguido de centrifugación a 3500 rpm durante 15 minutos. La fase acuosa se eliminó mediante succión con micropipeta, y la 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 µL de fase móvil, de los que 50 µL fueron inyectados en el sistema de HPLC.

La determinación cromátográfica se llevó a cabo en una columna C18 XBridge en fase reversa (3.5 µm; 100 mm x 4.6 mm, Waters, Barcelona, Spain), con un volumen de inyección fijado en 50 µL. Los viales del autoinyector y la temperatura de la columna se mantuvieron a 5ºC. La fase móvil estaba constituida por acetonitrilo (52%) y tampón acetato amonico 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 alfaxolona 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 332 nm y de emisión de 516 nm.

3.2.3.1. Validación de la técnica

Linealidad

Las curvas de calibrado se prepararon con 7 concentraciones diferentes entre 10 y 1000 µg/L usando plasma de gatos 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 alfaxolona. 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 alfaxolona se prepararon mediante diluciones seriadas en tampón fosfato hasta alcanzar concentraciones finales de 10, 25, 50, 100, 250, 500 y 1000 µg/L. Los controles se prepararon a partir de un pool de blancos de

plasma con cantidades conocidas de alfaxolona para alcanzar concentraciones similares. Las alícuotas de plasma se almacenaron a – 70 °C hasta su procesamiento.

Las alícuotas de los estándares, controles y muestras fueron procesadas como se describe anteriormente y se inyectaron 50 µL en el sistema cromatográfico.

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.

Precisión

La media (X ± DE) de las recuperaciones para el plasma, inter-día e intra-día, fueron de 98.7 ± 0.18 y 99.6 ± 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 (RSD < 8%). La precisión inter-día se estimó mediante el análisis de tres concentraciones estándar durante tres días consecutivos (RSD < 10%).

Límite de cuantificación y detección

El límite de detección de alfaxolona 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 µg/L y el límite de cuantificación de 10 µg/L.

3.2.3.2. Análisis Farmacocinético

Una vez obtenidas las concentraciones de alfaxolona 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 (Riegelman y Collier, 1980; Gibaldi y Perrier, 1982), utilizando el programa informático WinNonlin Professional® (versión 5.0). El area 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 linear/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 un estimación del $AUC_{0-\infty}$ total. El tiempo medio de absorción (MAT) se determinó también tras la administración intramuscular ($MAT= MRT_{IM} – MRT_{IV}$) 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.

$$F=(AUC_{IM}/D_{IM})/ (AUC_{IV}/D_{IV}) \cdot 100$$

3.2.4. Análisis estadístico

El software utilizado para dicho experimentofue mediante el paquete de análisis estadístico SPSS® versión 19.00, USA, 2010 y STATGRAPHICS Plus (versión 5) Manugistics, Inc., Rockville, USA.

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.

Así, 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 ha comprobado el ajuste de dichas concentraciones a la distribución normal. También se ha utilizado 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 alfaxolona.

Las posibles diferencias existentes entre las distintas curvas farmacocinéticas experimentales, correspondientes a una misma vía de administración se han determinado con el test de Wilcoxon. 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.

Para el estudio farmacodinámico, el análisis estadístico de los datos con distribución normal (SiT, SRi, LR, LH, SRt y ST) se realizó mediante la prueba T parados muestras independientes. Los parámetros sin una distribución normal (nivel de

sedación y/o anestesia) se analizaron mediante el test de Kruskal-Wallis. Cuando se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas, se analizaron las comparaciones gracias a la prueba de Mann-Whitney para dos muestras independientes.

Se consideró un valor de $p < 0,05$ para establecer diferencias estadísticamente significativas.

4.RESULTADOS

4.1. Experiencia 1: Efecto clínico de la inyección intramuscular de alfaxalona sola o en combinación con dexmedetomidina

Efecto clínico

En todos los gatos se evidenció un efecto clínico de sedación y/o anestesia que se consideró compatible con una absorción efectiva de la alfaxalona tras su inyección intramuscular. Un único gato en el grupo A_5 alcanzó un estado de anestesia general con una duración total de al menos 35 minutos. El resto de gatos en este grupo consiguieron puntuaciones compatibles con una sedación variable que osciló de moderada a profunda. Los niveles de sedación fueron significativamente más elevados (de manera dosis dependiente) en los grupos $D_{20}A_5$ y $D_{40}A_5$. Por su parte, los animales que recibieron dexmedetomidina consiguieron alcanzar un estado compatible con anestesia general (Tabla 4). En cuanto al nivel de sedación y/o anestesia, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos A_5 y $D_{20}A_5$ a tiempos t10 (p=0.026), t30 (p = 0.007), t45 (p = 0.001) y t60 (p = 0.001); entre los grupos A_5 y $D_{40}A_5$ desde t5 hasta t60 (p = 0.001); y entre los grupos $D_{20}A_5$ y $D_{40}A_5$ a tiempos t10 (p = 0.038), t15 (p = 0.038), t60 (p = 0.02) y t90 (p = 0.014).

Intubación

En el grupo A_5 sólo dos animales (2/7) pudieron ser intubados, uno de ellos con una valoración del nivel de sedación y/o anestesia mayor de 11. Por su parte, todos los gatos incluidos dentro de los grupos $D_{20}A_5$ y$D_{40}A_5$ pudieron ser intubados. La

intubación resultó significativamente más fácil en los gatos del grupo $D_{40}A_5$ que en los grupos A_5 ($p = 0.033$) y $D_{20}A_5$ ($p = 0.037$).

Duración de la anestesia

El inicio de la anestesia fue significativamente más rápido ($p = 0.027$) y de duración más prolongada ($p = 0.002$) en el grupo $D_{40}A_5$ comparado con el $D_{20}A_5$ (Tabla 3). Así mismo, el tiempo de extubación de los gatos del grupo $D_{40}A_5$ fue significativamente más prolongado que para el grupoA_5 ($p = 0.011$). Los tiempos LH, SRr y ST fueron clínicamente más cortos en el grupo A_5 en comparación con los otros dos grupos, aunque no hubieron diferencias estadísticamente significativas.

Parámetros hemodinámicos

Los datos de los parámetros cardiorespiratorios están recogidos en la Tabla 6. Los valores medios de FC en el grupo donde se administró exclusivamente alfaxalona fueron significativamente más elevados en comparación a los observados para los grupos $D_{20}A_5$ y $D_{40}A_5$ a tiempos t5 ($p = 0.027$, $p = 0.015$), t10 ($p = 0.01$, $p = 0.001$), t15, t20, t30, t45 y t60 ($p < 0.001$, $p < 0.001$), respectivamente. La SAP en el grupo $D_{40}A_5$ fue significativamente más elevada a tiempos t10 ($p = 0.002$, $p = 0.016$), t15 ($p = 0.023$, $p = 0.011$) y t20 ($p < 0.001$, $p = 0.021$) en comparación a los valores obtenidos para los grupos A_5 y $D_{20}A_5$, respectivamente. Además, la SAP a tiempo t30 fue significativamente más baja en el grupo A_5 frente a los grupos $D_{20}A_5$ ($p = 0.036$) y $D_{40}A_5$ ($p = 0.002$).

Tabla 3. Tiempos en esternal (SRi) y lateral (LR); inicio (OA), duración (AD) (tiempo entre OA y AR), fin de la anestesia (AR), levantar la cabeza (LH), esternal (SRr) yen estación (ST) expresado como media (X ± DE) tras la administración intramuscular de 5 mg/kg alfaxalona (A_5), 5 mg/kg alfaxalona con 20 µg/kg ($D_{20}A_5$) o 40 µg/kg dexmedetomidina ($D_{40}A_5$) en gatos (n = 7).

	Tiempo (minutos)							
Grupo	**SRi**	**LR**	**OA**	**AD**	**AR**	**LH**	**SRr**	**ST**
A_5	2.8 ± 1.6	7.4 ± 4.9				56 ± 24 [a,b]	71.9 ± 21.5[a,b]	81.1 ± 17.8[a,b]
$D_{20}A_5$	1.9 ± 2.1	3.7 ± 2.7	24.7 ± 15.2[a]	49.13 ± 24[a]	73.9 ± 27.6[a]	134.7 ± 33.9[c]	139.3 ± 33.8[c]	147.9 ± 38.1[c]
$D_{40}A_5$	1.6 ± 0.8	3 ± 0.9	9 ± 6[b]	103.1 ± 28.1[b]	112.1 ± 28.3[b]	153 ± 15.2[c]	156.6 ± 13.9[c]	166.1 ± 11.6[c]

[a]Significativamente diferente del valor tras alfaxalona (5 mg/kg) con dexmedetomidina a 40 µg/kg($p < 0.05$).
[b]Significativamente diferente del valor tras alfaxalona (5 mg/kg) con dexmedetomidina a 20 µg/kg($p < 0.05$).
[c]Significativamente diferente del valor tras alfaxalona (5 mg/kg) ($p < 0.05$).

Tabla 4. Nivel de sedación (rango: 0 = no sedación, 20 = máxima sedación) durante el tiempo de la experiencia (minutos) en gatos (n = 7) expresado como la mediana (rango) tras la administración intramuscular (tiempo cero) de alfaxalona a 5 mg/kg (A_5), alfaxalona (5 mg/kg) con dexmedetomidina a 20 µg/kg ($D_{20}A_5$) y alfaxalona (5 mg/kg) con dexmedetomidina a 40 µg/kg ($D_{40}A_5$).

	Tiempo (minutos)									
Grupo	**5**	**10**	**15**	**20**	**30**	**45**	**60**	**90**	**120**	**150**
A_5	7 (3 – 10)[a]	9 (3 – 14)[a,b]	10 (7 – 16)[a]	11 (8 – 16)[a]	11 (9 – 16)[a,b]	10 (5 -13)[a,b]	8 (3 -11)[a,b]			
$D_{20}A_5$	10 (2 -17)	14 (7 -18)[a,c]	15 (7 – 18)[a]	15 (6 – 18)	16 (13 – 18)[c]	17 (14 – 18)[c]	16 (14 -18)[a,c]	15 (13 -17)[a]	14 (11 -17)	9 (4 -15)
$D_{40}A_5$	16 (12 – 18)[c]	17 (15 – 18)[b,c]	18 (16 -18)[c]	18 (17 – 18)[c]	18 (17 – 18)[b,c]	18 (18 – 18)[b,c]	18 (18 – 18)[b,c]	17 (16 – 18)[b]	15 (12 – 18)	13 (4 – 18)

[a]Significativamente diferente del valor tras alfaxalona (5 mg/kg) con dexmedetomidina a 40 µg/kg($p < 0.05$).
[b]Significativamente diferente del valor tras alfaxalona (5 mg/kg) con dexmedetomidina a 20 µg/kg($p < 0.05$).
[c]Significativamente diferente del valor tras alfaxalona (5 mg/kg) ($p < 0.05$).

Parámetros respiratorios

La f_R fue significativamente más baja a tiempos t20 ($p = 0.045$) y t30 ($p = 0.014$) en el grupo A_5 frente a los valores medios obtenidos para el grupo $D_{40}A_5$. Los niveles de SpO_2 permanecieron dentro de valores por encima del 90% en todos los gatos de los grupos A_5 y $D_{20}A_5$, aunque se observaron valores por debajo dicho nivel (hasta de un 87%) en el período comprendido entre los tiempos t15 y t60 en el grupo $D_{40}A_5$.

Tabla 5. Incidencia de efectos adversos (se indica números de animales y porcentaje) durante la fase de recuperación tras la administración intramuscular de 5 mg/kg de alfaxalona (A_5), 5 mg/kg de alfaxalona con 20 µg/kg ($D_{20}A_5$) o 40 µg/kg de dexmedetomidina ($D_{40}A_5$) en gatos (n = 7).

	Disforia	Vómito	Ataxia	Hiperquinesis	Micción	Salivación
A_5	1(14.28%)	0	2(28.57%)	0	0	0
A_5D_{20}	0	2(28.57%)	0	0	0	0
A_5D_{40}	0	1(14.28%)	1(14.28%)	2(28.57%)	1(14.28%)	1(14.28%)

Efectos adversos

Los efectos adversos (Tabla 5) que se observaron durante la fase de recuperación consistieron en un caso de disforia y un período corto de ataxia en dos de los gatos del grupo A_5. En el grupo $D_{20}A_5$ sólo se produjeron dos episodios de vomitos. Las reacciones adversas encontradas en el grupo $D_{40}A_5$ fueron un caso de vómito en un único animal, micción y ataxia prolongada con hiperquinesia en otro animal y, finalmente, salivación e hiperquinesia en un tercer sujeto. El resto de animales mostraron una recuperación suave y progresiva sin ningún tipo de excitación.

Tabla 6. Valores de los valores hemodinámicos y temperatura rectal medidos desde 5 hasta 150 minutos en siete gatos tras la administración intramuscular de alfaxalona a 5 mg/kg (A_5), alfaxalona (5 mg/kg) con dexmedetomidina a 20 µg/kg ($D_{20}A_5$) y alfaxalona (5 mg/kg) con dexmedetomidina a 40 µg/kg ($D_{40}A_5$).

		Tiempo (minutos)									
Parámetro	**Grupo**	**5**	**10**	**15**	**20**	**30**	**45**	**60**	**90**	**120**	**150**
FC	**A_5**	194±23[a,b]	180±31[a,b]	181±19[a,b]	169±20[a,b]	173±25[a,b]	184±20[a,b]	190±30[a,b]			
(lat/min)	**$D_{20}A_5$**	160±2[c]	141±20[c]	132±22[c]	122±13[c]	111±15[c]	104±14[c]	99±15[c]	104±17	100±15	97±18
	$D_{40}A_5$	156±23[c]	126±12[c]	123±9[c]	137±27[c]	117±9[c]	113±9[c]	106±8[c]	102±7	98±7	103±15
f_R	**A_5**	46±8	39±8	38±8	34±7[a]	29±4[a]	29±10	29±9			
(resp/min[n])	**$D_{20}A_5$**	43±14	37±7	36±6	36±5	35±5	31±5	30±6	27±3	24±5	29±5
	$D_{40}A_5$	48±10	49±9	46±10	41±4[c]	37±4[c]	36±5	33±4	32±4	29±5	30±5
SAP	**A_5**		103±15[a]	122±18[a]	114±8[a]	115±11[a,b]	122±19	124±24			
(mm Hg)	**$D_{20}A_5$**		115±7[a]	120±20[a]	135±23[a]	142±23[c]	136±24	129±22	115±26	109±22	121±44
	$D_{40}A_5$		155±12[b,c]	161±16[b,c]	138±26[b,c]	157±16[c]	146±25	141±23	126±23	114±20	113±32

SpO_2	**A_5**		97± 1	93± 2	93	92± 2	93 ±2	92 ±2			
(%)	**$D_{20}A_5$**		88 ±4	90±3	90±2	90±3	92±1	92±2	92±3	92±3	93± 2
	$D_{40}A_5$		91±3	87±5	87±5	87±4	88±4	89±6	90±4	91±4	91±4
T°	**A_5**	38.4±0.3	38.3±0.4	38.1±0.6	38±0.5	37.8±0.3	37.7±0.5	37.2±0.3			
(Cº)	**$D_{20}A_5$**	38.3±0.6	38.2±0.8	38.2±0.6	38±0.5	38±0.7	37.7±0.5	37.4±0.6	37±0.8	36.4±0.6	36.6±0.4
	$D_{40}A_5$	38.8±0.8	38.8±0.9	38.5±0.8	38±0.7	38.3±0.8	38±0.8	37.8±1	37.5±1	37.2±1	36.9±0.8
$PE´CO_2$	**A_5**										
(mm Hg)	**$D_{20}A_5$**		24±1	24±1	21±3	21±3	22±4	23±5	21±4	22±3	21 (2.8)
	$D_{40}A_5$		17±7	17±7	18±7	19±3	19±6	19±6	19±5	19±4	20±1

FC, frecuencia cardíaca; f_R, frecuencia respiratoria; SAP, presión arterial sistólica; SpO_2, saturación en oxígeno de la hemoglobina; Tª, temperatura rectal; $PE´CO_2$, presión de dióxido de carbono al final de la espiración.

[a]Significativamente diferente del valor tras alfaxalona (5 mg/kg) con dexmedetomidina a 40 µg/kg($p < 0.05$).
[b]Significativamente diferente del valor tras alfaxalona (5 mg/kg) con dexmedetomidina a 20 µg/kg($p < 0.05$).
[c]Significativamente diferente del valor tras alfaxalona (5 mg/kg) ($p < 0.05$).

4.2. Experiencia 2: Estudio farmacocinético–farmacodinámico

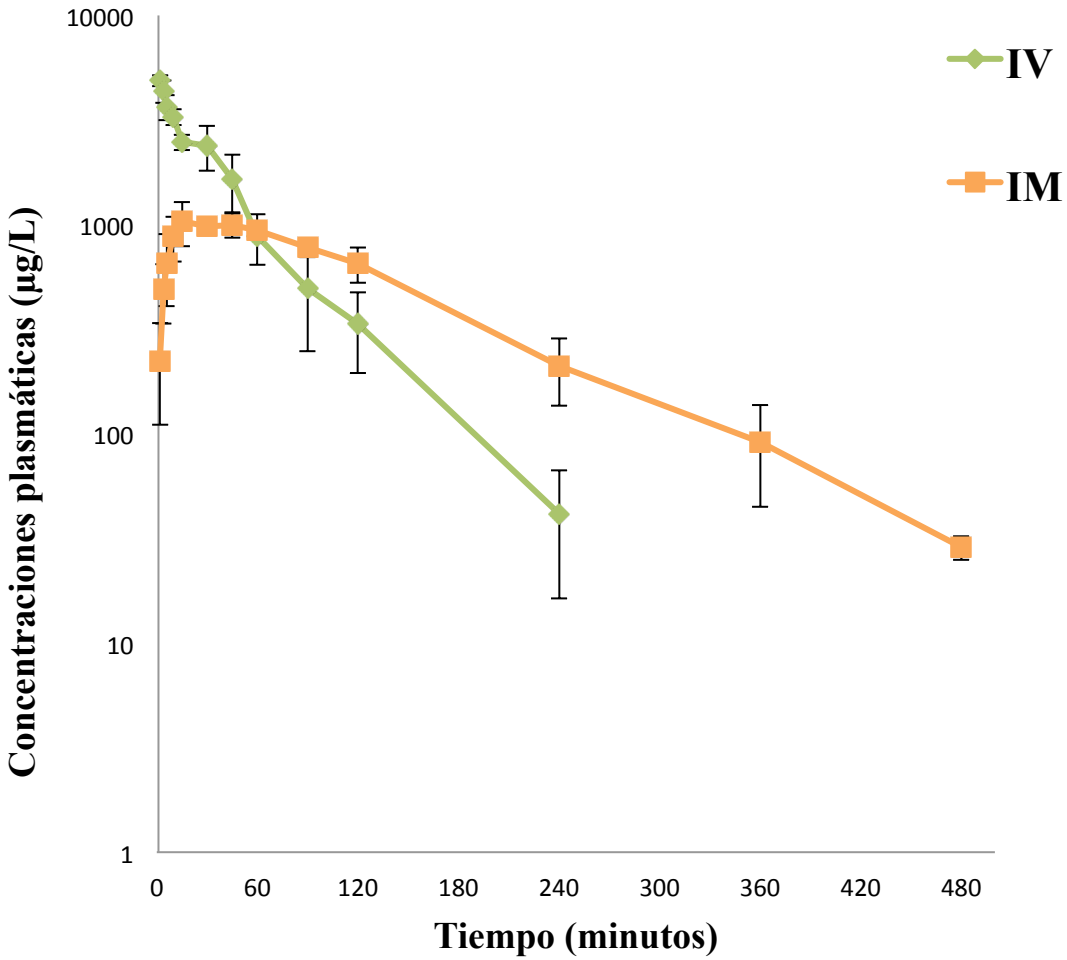
4.2.1. Estudio Farmacocinético

Administración intravenosa de Alfaxalona

Los valores de concentración plasmática de alfaxalona obtenidos tras la administración intravenosa de Alfaxan® (alfaxalona solubilizada con 2 – hidroxipropil - β - ciclodextrina) en gatos a dosis equivalente a 5 mg/kg de peso vivo se muestran en la Tabla 7. En todos los casos, se observa cómo se produce un marcado descenso de estas concentraciones durante los primeros treinta minutos tras su administración. Este descenso se hace más lento a partir de ese tiempo.

La evolución de los valores medios de concentración plasmática de alfaxalona a los distintos tiempos de extracción, se muestra en el Gráfico 1. En la Tabla 7 se muestran dichos valores junto con diversos estadísticos. Con respecto al coeficiente de variación, Wagner (1983) indicó 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 inferiores al 31 % en todas las extracciones, salvo en las correspondiente a las 1.5, 2 y 4 horas, en las que se supera este valor. A pesar de ello, el valor más alto obtenido (51.69%), resultó muy inferior al 75% que Wagner (1983) considera como normal, por lo que a priori los datos obtenidos en este estudio resultan válidos.

Gráfico 1. Concentraciones plasmáticas (µg/L) (media±DE) de alfaxalona tras su administración intravenosa (IV) e intramuscular (IM) a una dosis única de 5 mg/kg en gatos (n=5).



No obstante, y con el fin de confirmar dicha suposición, se realizó 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 test se muestran en la última columna de la Tabla 7, donde puede apreciarse que el nivel de significación es elevado para todos los tiempos de extracción, excepto para las extracciones realizadas a los 6 y 15 minutos que resultan algo más bajos. Por tanto, queda igualmente comprobado el buen ajuste de las concentraciones obtenidas 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 resultó preciso incrementar el número de animales utilizados en esta parte del estudio.

En la Tabla 9, 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 bolus. En dicha tabla aparecen los valores de el área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (AUC), área bajo la curva del segundo momento estadístico (AUMC) y tiempo medio de residencia o primer momento estadístico (MRT), que corresponden a los distintos momentos estadísticos de la curva de disposición, así como los valores de la constante híbrida de disposición lenta (λ_z), el tiempo de vida media o semivida ($t_{½\lambda z}$), 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, aparecen en la últimas columnas de la Tabla 9. 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).

Tabla 7. Concentraciones plasmáticas experimentales (µg/L), estadísticos de las concentraciones obtenidas y valores de significación para el test de Kolmogorov-Smirnov (NS) en gatos (n = 5) tras la administración intravenosa de alfaxalona a una dosis de 5 mg/kg.

DE: Desviación estándar; EE: Error estándar; CV: Coeficiente de Variación; NS: Nivel de significación

Tiempo	Gato 1	Gato 2	Gato 3	Gato 4	Gato 5	Media	DE	EE	CV	NS
0.033 h.	5084.4	4979.4	4377.1	4936.9	5005.7	4876.70	284.41	127.19	5.83	0.858
0.067 h.	3480.8	4829.1	4718.5	4244.1	4492.8	4352.89	536.69	240.01	12.33	0.961
0.1 h	2840.5	4198.9	3646.4	3699.8	3859.3	3648.89	500.71	223.92	13.72	0.766
0.16 h.	2814.1	3567.5	3251.3	3360.5	3379.1	3274.45	281.39	125.84	8.59	0.868
0.25 h.	2128.5	2660.3	2610.5	2485.3	2527.4	2482.30	209.29	93.60	8.43	0.739
0.50 h.	2048.9	2925.9	2737.4	1531.9	2706.6	2390.15	583.27	260.85	24.40	0.936
0.75 h.	1174.7	2018.3	2201.5	1057.6	1807.4	1651.90	510.24	228.19	30.89	0.962
1.00 h.	751.7	1171.1	827.8	584.9	1066.3	880.36	237.55	106.24	26.98	0.995
1.50 h.	414.9	804.8	258.6	292.1	707.3	495.56	247.26	110.58	49.90	0.957
2.00 h.	204.2	508.4	186.9	345.9	432.4	335.56	140.28	62.74	41.81	0.961
4.00 h.	22.5	85.1	15.3	35.2	59.5	41.52	25.20	11.27	51.69	0.972

Tabla 8. Concentraciones plasmáticas experimentales (µg/L), estadísticos de las concentraciones obtenidas y valores de significación para el test de Kolmogorov-Smirnov (NS) en gatos (n = 5) tras la administración intramuscular de alfaxalona a una dosis de 5 mg/kg.

DE: Desviación estándar; EE: Error estándar; CV: Coeficiente de Variación; NS: Nivel de significación

Tiempo	Gato 1	Gato 2	Gato 3	Gato 4	Gato 5	Media	DE	EE	CV	NS
0.033 h.	388.7	112.9	223.9	124.5	269.7	223.95	113.42	50.72	50.65	0.980
0.067 h.	420.3	358.5	490.7	753.4	430.7	490.72	154.15	68.94	31.41	0.859
0.1 h	941.3	655.5	653.6	750.6	266.9	653.57	245.82	109.94	37.61	0.759
0.16 h.	1063.9	843.6	876.7	1054.1	545.1	876.67	210.69	94.22	24.03	0.940
0.25 h.	1234.8	909.1	1033.9	1297.5	694.3	1033.92	245.33	109.71	23.73	0.992
0.50 h.	1066.4	997.3	981.8	927.9	935.8	981.85	55.72	24.92	5.67	0.991
0.75 h.	1215.7	975.3	997.1	921.4	876.6	997.15	130.93	58.55	13.13	0.853
1.00 h.	1085.3	851.9	940.7	944.9	880.7	940.70	90.02	40.26	9.57	0.823
1.50 h.	763.1	793.9	776.2	666.4	881.4	776.20	76.82	34.36	9.90	0.950
2.00 h.	514.7	809.7	652.6	545.4	740.5	652.57	125.41	56.09	19.22	0.985
4.00 h.	111.8	313.9	211.2	177.3	241.8	211.20	75.02	33.55	35.52	1.000
6.00 h	54.2	76.6	91.2	63.6	170.4	91.20	46.41	20.76	50.89	0.824
8.00 h		23.9	28.7	32.9	29.2	28.67	3.69	1.85	12.88	0.964

Administración intramuscular de alfaxalona

La Tabla 8 muestra los valores de concentración plasmática de alfaxalona obtenidos tras la administración intramuscular de una dosis de 5 mg/kg de peso vivo en gatos. Como se puede apreciar las concentraciones plasmáticas experimentales son inferiores a las obtenidas tras la administración intravenosa en todos los tiempos ensayados hasta la hora posterior a la administración, donde éstas se igualan. A partir de ese momento permanecen más elevadas durante el resto del periodo de muestreo. En todos los gatos, tras la administración intramuscular de este anestésico, la concentración del fármaco siguió una evolución semejante a lo largo del tiempo con un aumento hasta aproximadamente las 0.25 horas, y, posterior descenso 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 ± DE), obtenidos tras la administración intramuscular a los distintos tiempos de extracción, aparece en el Gráfico 1, junto a los obtenidos tras la administración intravenosa.

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 las últimas columnas de la Tabla 8. Los coeficientes de variación obtenidos son inferiores al 38%, excepto el correspondiente al tiempo de extracción de 2 minutos y 6 horas (50.89 %), pero aún así permanecen dentro del rango establecido como aceptable por Wagner (1983).

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 8. Se aprecia que los niveles de significación fueron muy elevados a todos los tiempos, a excepción del correspondiente a los 6 minutos, que resultó algo más bajo.

El resultado del estudio farmacocinético no compartimental, junto a los estadísticos de desviación y el test de Kolmogorov-Smirnov queda reflejado en la Tabla 10. Los resultados de dicho test demuestran un buen ajuste a la distribución normal, ya que en todos los parámetros se obtienen niveles de significación elevados.

Comparación de los parámetros farmacocinéticos de la alfaxalona obtenidos tras su administración intravenosa e intramuscular administrada de forma única

Para verificar la existencia de diferencias significativas entre la administración intravenosa e intramuscular de alfaxalona se aplicaron 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 11. En esta tabla, se aprecia que tras la administración intravenosa e intramuscular de alfaxalona existen diferencias significativas ($p < 0.05$) en la constante híbrida de disposición lenta (λ_z), el tiempo de vida media ($t_{½\lambda z}$), AUMC, tiempo medio de residencia (MRT) y en el volumen de distribución calculado en función del área bajo la curva (V_z). Tras la administración

intramuscular de alfaxalona, la eliminación se hace más lenta debido a la influencia del proceso de absorción provocando una distribución más amplia del fármaco, una prolongación de la vida media y del tiempo medio de residencia que resultan estadísticamente significativos ($p < 0.05$). De hecho el tiempo medio de absorción (MAT) resultó ser superior al tiempo medio de residencia intravenoso (MRT_{IV}) indicando que la cinética de alfaxalona tras la administración intramuscular en gatos sigue un modelo "flip flop", donde la absorción resulta ser el proceso limitante para la eliminación del fármaco del organismo.

La representación gráfica de las concentraciones plasmáticas e intramusculares de alfaxalona muestran que los valores medios correspondientes a la administración intramuscular superan los de la intravenosa a partir de los 60 minutos, y son detectables hasta el final del tiempo de muestreo (8 horas). Por el contrario, tras la administración intravenosa no se registraron concentraciones detectables a partir de las 4 horas (Grafico 1).

Tabla 9. Parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos para cada animal, estadísticos de los parámetros no compartimentales y valores de significación para el test de Kolmogorov-Smirnov (NS) en gatos (n = 5) tras la administración intravenosa de alfaxalona a una dosis de 5 mg/kg.

AUC: Área bajo la curva; AUMC: Área bajo la curva del primer momento estadístico; MRT: Tiempo medio de residencia; λ_z: Constante híbrida de disposición lenta; $t_{½\lambda z}$: Tiempo de vida media o semivida; C_0: Concentración plasmática inicial teórica; Cl: Aclaramiento plasmático; V_{SS}: Volumen aparente de distribución en estado estacionario; V_Z: Volumen aparente de distribución en función del área bajo la curva.

Parámetros	Unidades	Gato 1	Gato 2	Gato 3	Gato 4	Gato 5	Media	DE	EE	CV	NS
λ_Z	h^{-1}	1.1652	0.6431	1.1654	1.0204	0.9906	0.9969	0.2136	0.0955	21.43	0.868
$t_{½\lambda Z}$	h	0.5949	1.0779	0.5948	0.6793	0.6997	0.7293	0.2007	0.0897	27.51	0.842
C_O	µg/L	7426.78	5134.48	4377.10	5742.79	5578.09	5651.85	1124.36	502.83	19.89	0.866
AUC	µg·h/L	2708.89	4458.56	3174.15	2766.95	3819.28	3385.57	745.77	333.52	22.03	0.979
AUMC	µg·h^2/L	1912.64	5282.59	2036.38	2180.19	3409.89	2964.34	1427.84	638.55	48.17	0.928
MRT	h	0.7061	1.1848	0.6416	0.7879	0.8928	0.8426	0.2131	0.0953	25.29	0.979
Cl	L/kg/h	1.8458	1.1214	1.5752	1.8070	1.3091	1.5317	0.3139	0.1404	20.49	0.980
V_{ss}	L/kg	1.3032	1.3287	1.0106	1.4238	1.1688	1.2470	0.1606	0.0718	12.87	0.950
V_z	L/kg	1.5840	1.7439	1.3517	1.7709	1.3215	1.5544	0.2115	0.0946	13.60	0.953

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

AUC: Área bajo la curva; AUMC: Área bajo la curva del primer momento estadístico; MRT: Tiempo medio de residencia; MAT: Tiempo medio de absorción; λ_z: Constante híbrida de disposición lenta; $t_{½\lambda z}$: Tiempo de vida media o semivida; C_0: Concentración plasmática inicial teórica; Cl: Aclaramiento plasmático; V_{SS}: Volumen aparente de distribución en estado estacionario; V_Z: Volumen aparente de distribución en función del área bajo la curva; F: Biodisponibilidad; Tmax: Tiempo máximo; Cmax: Concentración máxima.

Parámetros	Unidades	Gato 1	Gato 2	Gato 3	Gato 4	Gato 5	Media	DE	EE	CV	NS
λ_Z	h^{-1}	0.6228	0.5605	0.4987	0.4829	0.4680	0.5266	0.0643	0.0287	12.20	0.866
$t_{½\lambda Z}$	h	1.1129	1.2366	1.3899	1.4352	1.4810	1.3311	0.1527	0.0683	11.47	0.914
AUC	µg·h/L	2711.16	3336.02	3040.33	2767.16	3283.50	3027.63	286.68	128.20	9.46	0.971
AUMC	µg·h^2/L	4459.98	7372.47	6557.93	5616.52	8256.13	6542.60	1481.52	662.55	22.96	1.000
MRT	h	1.6450	2.2100	2.1570	2.0297	2.5144	2.1112	0.3156	0.1411	14.95	0.989
MAT	h	0.9389	1.0252	1.5154	1.2418	1.6216	1.2685	0.2661	0.098	12.34	0.988
Cl/F	L/kg/h	1.8442	1.4988	1.6449	1.8669	1.5228	1.6635	0.1585	0.0709	9.53	0.948
V_z/F	L/kg	2.9612	2.6739	3.2976	3.7414	3.2535	3.1855	0.3995	0.1786	12.54	0.995
t_{max}	h	0.25	0.5	0.25	0.25	0.5	0.3500	0.1369	0.0612	39.12	0.822
C_{max}	µg/L	1234.8	997.3	1033.9	1297.5	935.8	1099.86	157.36	70.37	14.30	0.881
F	%	100.08	74.82	95.78	100.00	85.97	91.32	9.73	4.23	11.3	0.891

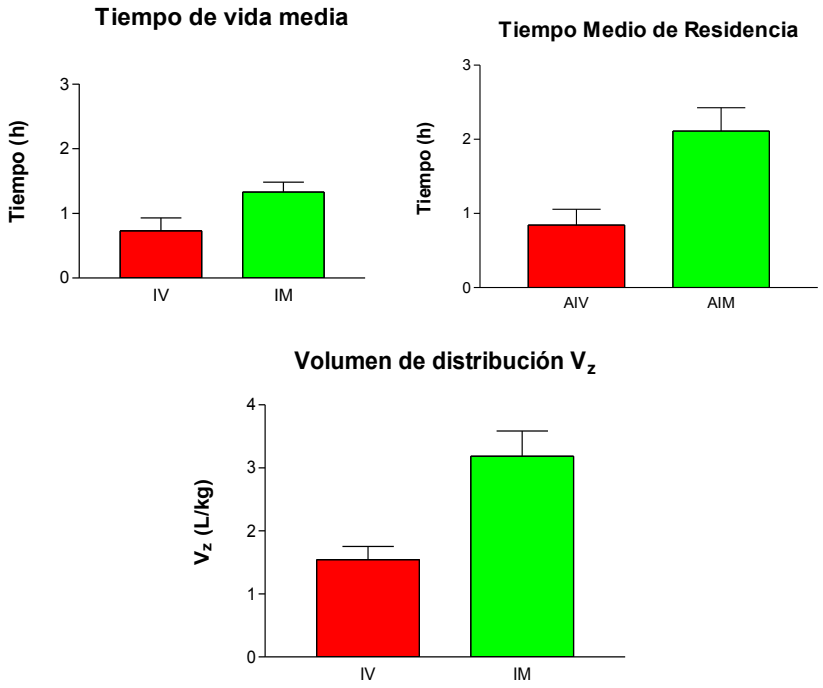
Tabla 11. Estudio comparativo paramétrico (t-Student) y no paramétrico (Mann-Whitney) entre los parámetros farmacocinéticos no compartimentales (media ± DE) en gatos (n = 5) entre las vías intravenosa (IV) e intramuscular (IM) tras la administración de alfaxalona a una dosis de 5 mg/kg.

NS: Nivel de significación; AUC: Área bajo la curva; AUMC: Área bajo la curva del primer momento estadístico; MRT: Tiempo medio de residencia; λ_z: Constante híbrida de disposición lenta; $t_{½\lambda z}$: Tiempo de vida media o semivida; Cl: Aclaramiento plasmático; V_Z: Volumen aparente de distribución en función del área bajo la curva; F: Biodisponibilidad.

Parámetros	Unidad	IV	IM	NS
λ_Z	h^{-1}	0.9969 ±0.2136	0.5266 ± 0.0643	$p< 0.05$
$t_{½\lambda Z}$	h	0.7293 ± 0.2007	1.3311 ± 0.1527	$p<0.05$
AUC	µg·h/L	3385.57 ± 745.77	3027.63 ± 286.68	NS
AUMC	µg·h^2/L	2964.34 ± 1427.84	6542.60 ± 1481.52	$p< 0.05$
MRT	h	0.8426 ± 0.2131	2.1112 ± 0.3156	$p< 0.05$
Cl/F	L/kg·h	1.5317 ± 0.3139	1.6635 ± 0.1585	NS
V_z/F	L/kg	1.5444 ± 0.2115	3.1855 ± 0.3995	$p< 0.05$

Comparación de la disposición de la alfaxalona tras su administración intravenosa e intramuscular administrada de forma única

El estudio comparativo entre los parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos tras la administración intravenosa (IV) e intramuscular (IM) de alfaxalona se encuentra en la Tabla 11. En las siguientes figuras, se aprecian gráficamente las diferencias existentes entre la vida media y tiempo medio de residencia de ambos grupos. Se han detectado también diferencias significativas entre las constantes híbridas de distribución lenta (λ_z), momento 2 estadístico (AUMC) y volumen de distribución calculado en función del área bajo la curva (V_z).



Estas diferencias son debidas a la influencia del proceso de absorción que sufre la alfaxalona desde el punto de inyección intramuscular, que hace que la vida media y el tiempo medio de residencia se prolonguen, lo que a su vez provoca una mayor distribución del fármaco en comparación a lo que se observa tras su administración intravenosa en el gato.

4.2.2. Estudio farmacodinámico

Reacción tras la administración

Ninguno de los gatos mostró algún tipo de malestar o reacción anómala durante la administración endovenosa e intramuscular de alfaxalona.

Duración del efecto clínico

La duración del efecto fue más prolongada en todos los gatos tras la administración intramuscular (Tabla 12). Sin embargo, sólo los tiempos SRi y LR resultaron significativamente más largos entre ambos grupos (p = 0,01; p < 0,01, respectivamente).

Efecto clínico

La administración intravenosa de alfaxalona indujo un efecto rápido compatible con un estado de anestesia general (> 15) a tiempos t5, t10 y t15. Posteriormente, se observó un descenso brusco de estos efectos desde el minuto 20 hasta el final de la experiencia, aunque se mantuvo en rango compatible con una sedación profunda (11-15) a tiempos t20 y t30. Tras la administración intramuscular, el efecto se produjo de manera más lenta en comparación al grupo IV. Se alcanzó un nivel de sedación profunda a los 10 minutos, que fue mantenido durante 45 minutos. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos para este parámetro a tiempos t2, t5, t10 y t45 (p < 0.01; p < 0.01; p < 0.01; p = 0.02, respectivamente) (tabla13).

Reacciones adversas

Un gato de cada uno de los grupos (20%) exhibió signos de hiperquinesia durante la recuperación. El resto de animales no presentaron reacciones adversas.

Tabla 12. Tiempos en sentarse (SiT), posición esternal (SRi) y decúbito lateral (LR) durante la fase de inducción, y levantar la cabeza (LH), decúbito esternal (SRr)y levantarse (ST) en minutos expresados como la media (X ± DE) tras la administración intramuscular (IM) o endovenosa (IV) (tiempo cero)de 5 mg/kgde alfaxalona en gatos (n = 5).

	Tiempo (minutos)					
Grupo	**SiT**	**SRi**	**LR**	**LH**	**SRr**	**ST**
IM	2.24 ± 1.88	3.73 ± 1.99[a]	6.12 ± 0.90[a]	77.96 ± 21.53	79.31 ± 21.75	84.23 ± 20.24
IV	0	0[b]	0[b]	58.19 ± 11.32	60.20 ± 10.65	65.88 ± 22.70

[a]Significativamente ($p < 0.05$) diferente del valor tras alfaxalona endovenosa (5 mg/kg)

[b]Significativamente ($p < 0.05$) diferente del valor tras alfaxlaona intramuscular(5 mg/kg)

Tabla 13. Nivel de sedación (rango: 0 = no sedación 20= sedación máxima) durante el tiempo(minutos) de la experiencia en gatos (n = 5) expresado como la mediana y su rango) tras la administración intramuscular (IM) o endovenosa (IV) (tiempo cero) de 5 mg/kg de alfaxalona.

Tiempo	**2**	**5**	**10**	**15**	**20**	**30**	**45**	**60**	**90**
IM	0 (0 – 1)[a]	6 (4 – 11)[a]	12.5 (6 – 13)[a]	13.5 (7 – 16)	15 (7 – 16)	15 (5 -13)	12.5 (10 - 15)[a]	10.5 (6 – 14)	0 (0 – 10)
IV	10.5 (9 -11)[b]	17 (17)[b]	17.5 (17 – 18)[b]	16 (14 – 17)	12.5 (12 – 16)	11.5 (14 – 18)	8 (4 - 10)[b]	4 (0 - 10)	0 (0)

[a]Significativamente ($p < 0.05$) diferente del valor tras alfaxalona endovenosa (5 mg/kg)

[b]Significativamente ($p < 0.05$) diferente del valor tras alfaxalona intramuscular (5 mg/kg)

5. DISCUSIÓN

5.1. Efecto clínico de la inyección intramuscular de alfaxalona sola o en combinación con dexmedetomidina

La presente Tesis Doctoral planteaba como hipótesis inicial que la administración exclusiva de alfaxalona por vía intramuscular podría inducir en la especie felina, un efecto de sedación o de anestesia en grado variable; así como que dicho efecto podría incrementarse por la adición de dexmedetomidina. Los resultados de la primera parte de este estudio corroboran estas hipótesis. Así se demuestra que la administración exclusiva de alfaxalona por vía intramuscular fue efectiva para inducir una sedación moderada a profunda en la mayoría de animales. Por su parte, todos los animales que recibieron combinaciones de alfaxalona y dexmedetomidina alcanzarón estados compatibles con una anestesia general (14/14). Los párametros monitorizados a nivel cardiorrespiratorio se mantuvieron dentro de niveles clínicamente aceptables y estables en el grupo A_5, con mínimos efectos adversos destacando una frecuencia respiratoria disminuida y reacciones hiperquinéticas suaves durante la fase de recuperación. La incorporación de dexmedetomidina, en los grupos $D_{20}A_5$ y $D4_0A_5$ produjo los clásicos efectos a nivel cardiovascular, con carácter dosis dependiente, ampliamente descritos para los sedantes agonistas de los receptores α_2 adrenérgicos.

La inyección intramuscular realizada sobre los músculos epaxiales lumbares fue bien tolerada. Así, durante la inyección, únicamente un individuo mostró signos de dolor y comportamiento violento, probablemente derivado del temperamento agresivo de este animal. Se ha descrito que la administración intramuscular de la combinación

alfaxalona/alfadolona resulta menos efectiva cuando se inyectaba sobre el músculo bíceps en comparación a la musculatura del cuádriceps (Evans y cols. 1972). Esta diferencia ha sido atribuída a la presencia de una fascia entre el músculo abductor y el bíceps (Baxter y Evans 1973) que podría limitar la correcta absorción de estos anestésicos administrados por vía intramuscular. Existen descripciones más recientes efectuadas en gatos premedicados con combinaciones de dexmedetomidina o de dexmedetomidina/hidromorfona, que reseñan la capacidad de inducir un plano de anestesia superficial tras la inyección de alfaxalona a nivel de la musculatura del cuádriceps derecho (Grubb y cols. 2013). No obstante, en esta experiencia se describe que la mayoría de gatos (8/12) reaccionaron a la inyección intramuscular de alfaxalona, incluso bajo sedación, por lo que los autores no recomendaban la ruta de administración intramuscular para la alfaxolona (Grubb y cols. 2013). Por el contrario, Ribas y cols. (2014) describieron que su administración intramuscular a nivel de la musculatura lumbar, junto a butorfanol producía una sedación efectiva y estable en el gato. Las diferencias encontradas entre estos estudios, referidos al grado de dolor durante la administración intramuscular de alfaxalona podrían relacionarse con las diferencias anatómicas existentes a nivel de la musculatura empleada para la inyección. En nuestro caso, la inyección efectuada a nivel de la musculatura epaxial lumbar no provocó dolor reseñable en la mayoría de ocasiones, a pesar de lo elevado del volumen de inyección, en línea a lo descrito por Ribas y cols. (2014), y permitió además una absorción clínicamente efectiva de la alfaxalona.

Los resultados obtenidos demuestran así mismo que la inyección exclusiva de alfaxalona por vía intramuscular era capaz de inducir un estado de sedación variable, de moderada a profunda, en la mayoría de casos (6/7); únicamente un individuo (1/7) alcanzó durante la experiencia 1 un estado compatible con anestesia general. Estudios

previos en los que se administró alfadolona/alfaxalona por vía intramuscular en otras especies, monos y titíes, describieron la inducción de estados variables de sedación o anestesia con carácter dosis - dependiente (Box y Ellis 1973, Phillips y Grist 1975). Estudios realizados en gatos con esta misma combinación por Evans y cols. (1972), describieron igualmente la inducción de sedación profunda y, en algunos casos, de anestesia útil de cara a procedimientos menores. Sin embargo, el inicio y la duración de estos efectos en gatos, a dosis de alfadolona/alfaxalona de 12 – 18 mg/kg resultaba ser dosis - dependiente y de efecto y duración variables (Jones 1979).

En relación a la nueva formulación de alfaxalona introducida en el mercado veterinario de manera relativamente reciente, son escasas las publicaciones acerca del efecto derivado de su administración intramuscular quizás, porque se encuentra autorizada para uso exclusivamente intravenoso. No obstante, existen descripciones previas que de manera similar a lo observado en nuestro estudio, describen efectos variables de sedación profunda y fiable o de anestesia general tras la administración intramuscular de alfaxalona en varias especies de mamíferos (Carpenter y cols. 2005, Thomas y cols. 2012, Santos González y cols. 2013, Giral y cols. 2014).

En nuestro estudio, la adición de dexmedetomidina a las dos dosis utilizadas en la experiencia 1, incrementó el efecto de la alfaxalona permitiendo en todos los casos (14/14) la inducción de un estado compatible con anestesia general. Estos resultados, coinciden con una publicación reciente donde la anestesia resultante de la administración de alfaxalona y dexmedetomidina por ruta intramuscular se evaluó mediante la monitorización del grado de incosciencia mediante determinación del índice biespectral (Grubb y cols. 2013). La potenciación de la anestesia tras el empleo de sedantes agonistas del adrenoreceptor α_2 es un hecho bien conocido en la práctica de la

anestesia veterinaria. Así, en numerosos estudios clásicos efectuados en perros y gatos sobre el efecto resultante de la administración intramuscular de combinaciones de ketamina y medetomidina describen la producción de sedación efectiva (Vähä-Vahe 1989), analgesia (Slingsby y cols. 1998) y/o anestesia caracterizada por una rápida inducción y buena relajación muscular (Verstegen y cols. 1989, Wiese y muir 2007), acompañada de mínimos efectos adversos en comparación a la combinación de xilacina y ketamina (Verstegen y cols. 1990, 1991) o romifidina y ketamina (Belda y cols. 2009). Por su parte, Bouts y cols. (2011) obtuvieron una inducción rápida de la anestesia junto a una recuperación suave y sin efectos adversos, tras el empleo de medetomidina en combinación con alfaxalona en ualabies. Además, en los grupos donde se administró dexmedetomidina, el efecto anestésico alcanzado mostró una intensidad creciente de carácter dosis - dependiente, que resultó significativo en cuanto a la rapidez de inicio de acción, duración de la anestesia y calidad de la intubación orotraqueal. Este efecto creciente de carácter dosis - dependiente, además del efecto reductor de las dosis cuando se administra junto a anestésicos generales, ha sido descrito tras la administración intramuscular de tres dosis diferentes de dexmedetomidina en gatos (Ansah y cols. 1998).

Una posible limitación de la presente Tesis es la no inclusión de dos grupos control que hubiesen recibido exclusivamente dexmedetomidina a las dosis administradas en los grupos $D_{20}A_5$ y $D_{40}A_5$. No obstante, se decidió reducir el número de experiencias a las que debían someterse los gatos enrrolados en este estudio por razones de ética y bienestar animal, máxime, si se considera que ya han sido ampliamente descritos los efectos clínicos de diversas dosis de dexmedetomidina en estudios previos realizados en gatos (Ansah y cols. 1998, Granholm y cols. 2006). Se ha descrito en gatos la desaparición de la sedación producto de la dexmedetomidina

transcurridos 60 minutos desde su administración vía intramuscular (Granholm y cols. 2006). En nuestro trabajo, se observa por que en los grupos $D_{20}A_5$ y $D_{40}A_5$ el efecto clínico permaneció por encima de un valor de 14, compatible pues con anestesia general, al menos durante 120 minutos en ambos grupos.

En cuanto al efecto cardiovascular observado para las diversas combinaciones estudiadas aquí, los valores de frecuencia cardíaca permanecieron estables y dentro de valores clínicamente aceptables, a lo largo de toda la experiencia en los gatos del grupo A_5. Hay descripciones previas sobre la administración endovenosa de alfaxalona a 2 y 5 mg/kg en gatos que observan igualmente un efecto clínicamente irrelevante a este nivel; y sólo dosis superiores a la clínicamente recomendades de 15, 25 y 50 mg/kg son capaces de afectar de manera acusada a este parámetro (Muir y cols. 2009, Zaki y cols. 2009). Por su parte, la administración de alfaxan junto a dexmedetomidina produjo un descenso marcado de la frecuencia cardíaca en todos los casos, independientemente de la dosis de dexmedetomidina administrada. Estudios anteriores ya describen que la bradicardia producida por la dexmedetomidina no se correlaciona de manera directa con una reducción de su dosis en gatos, aunque si se describe que el empleo de una dosis más reducida acorta la duración de la bradicardia (Ansah y cols. 1998, Selmi y cols. 2003, Granholm y cols. 2006, Monteiro y cols. 2009, McSweeney y cols. 2012). Es interesante resaltar que en otro estudio previo efectuado en gatos, la administración por vía intramuscular de alfaxalona en pacientes premedicados con dexmedetomidina (0.01 mg/kg) e hidromorfona (0.1 mg/kg) apenas presentó un efecto depresor sobre la frecuencia cardíaca (Grubb y cols. 2013). No obstante, en este último estudio las dosis de dexmedetomidina utilizadas fueron inferiores a las utilizadas en nuestra experiencia.

Por su parte, los valores de presión sanguínea se mantuvieron también dentro de rangos clínicamente aceptables en todos los grupos experimentales. Estas determinaciones se efectuaron mediante el empleo de Doppler. En este sentido, un estudio clásico efectuado por Caulkett y cols. (1998) concluyó que esta técnica de registro no invasivo de presiones arteriales, resultaba efectiva para inferir valores de presión arterial media (PAM), ya que estos se correlacionaban de manera precisa con los valores de PAM registrados por medio de técnicas de determinación invasiva en gatos anestesiados. No obstante, un estudio más reciente sostiene que la interpretación de los valores de presión obtenidas por Doppler debe ser tomada con precaución y basada en la experiencia del clínico (da Cunha y cols. 2014). En cualquier caso, hay descripciones acerca del efecto hipotensor suave observado tras la administración endovenosa de alfaxalona a dosis clínicamente aceptables (2 – 5 mg/kg) en gatos no premedicados (Muir y cols. 2009). Los resultados de nuestra experiencia demuestran que los valores de presión arterial sistólica fueron significativamente más altos en el grupo $D_{40}A_5$, así como que, clínicamente, los valores más reducidos se encontraron dentro del grupo A_5. Se observó en los grupos $D_{20}A_5$ y $D_{40}A_5$ el efecto tradicional bifásico sobre la presión sanguínea asociado al uso de agonistas de los receptores α_2 adrenérgicos. Así, los valores de presión estuvieron más incrementados durante los primeros 20 minutos de la experiencia, para luego descender de manera gradual hasta el final de la misma. Se describe ampliamente en la literatura el efecto resultante de la activación de receptores α_2 postsinápticos en la musculatura vascular lisa periférica, caracterizado por un incremento inicial de la presión arterial derivado de una vasoconstricción periférica. Estos fenómenos se siguen del descenso del tono simpático, derivado de un efecto a nivel central, con la consiguiente disminución progresiva de la presión sanguínea (Dobromylskyj 1996). Por su parte, Grubb y cols. (2013) describen

un aumento ligero de la presión arterial en gatos tras la administración intramuscular de alfaxalona a 5 mg/kg en combinación con dexmedetomidina a 0.01 mg/kg, aunque no recogieron valores de presión hasta 30 minutos después de intubar orotraquealmente a estos pacientes.

En cuanto al efecto de las combinaciones estudiadas sobre el sistema respiratorio, destaca la ausencia de episodios de apneas en todos los gatos de nuestro estudio. Este hallazgo coincide con otras descripciones que indican que las apneas contituyen una complicación poco frecuente cuando se administra alfaxalona endovenosamente tanto en gatos jóvenes como en adultos (Zaki y cols. 2009, O'Hagan y cols. 2012, Beths y cols. 2014). Igualmente, tampoco se detectó ningún episodio de apnea tras la administración intramuscular de alfaxalona y dexmedetomidina en gatos a dosis ya descritas para este estudio con antelación (Grubb y cols. 2013). En nuestro estudio, la frecuencia respiratoria se mantuvo en niveles clínicos más elevados tras la administración de dexmedetomidina y alfaxalona, presentando una disminución gradual a lo largo de la experiencia. Por otro lado, se detectaron episodios de hipocapnia moderada [$PE´CO_2$ = 18 – 25 mmHg (2.4 – 3.3 kPa)], que podrían, no obstante, explicarse por limitaciones en el método empleado para su determinación. En efecto, dado que el patrón respiratorio que mostraban la mayoría de gatos al inicio de las experiencias fue superficial es probable que estos valores subestimasen la tensión alveolar real de dióxido de carbono. Ansah y cols. (1998) también describieron un incremento inicial en la frecuencia respiratoria en gatos sedados con medetomidina y dexmedetomidina por vía intramuscular. Por el contrario, otros autores describen que la administración intramuscular de dexmedetomidina y alfaxalona produce una tendencia hacia la bradipnea aunque sin afectar la tensión final espiratoria de dióxido de carbono (Grubb y cols.2013).

Los valores de saturación arterial de hemoglobina se mantuvieron en valores superiores a los niveles clínicamente aceptables (≥ 90%) en los grupos A_5 y $D_{20}A_5$. No obstante, en el grupo $D_{40}A_5$ se observó una reducción marcada de estos valores alcanzándose valores mínimos del 87%. En el diseño experimental de esta Tesis se decidió no suplementar a los gatos con oxígeno, con el fin de evaluar la influencia potencial de los distintos tratamientos administrados sobre este parámetro. Los resultados obtenidos sugieren que el aporte de oxígeno suplementario debe ser recomendado para reducir el riesgo de hipoxemia, en particular si se emplean dosis elevadas de dexmedetomidina en combinación a alfaxalona. En cualquier caso, la reducción de las lecturas de pulsioximetría también podrían explicarse como resultado de un empeoramiento en la calidad de la señal registrada, consecuencia del efecto de vasoconstricción inducido por la dexmedetomidina, así como por un efecto presor local de la pinza sobre la circulación local (Moens y Coppens 2007).

Se observó una tendencia clara a la disminución de la temperatura corporal en los tres grupos experimentales. La hipotermia inducida por los agonistas de los receptores α_2 adrenérgicos es bien conocida, y se relaciona con la disminución en la producción de calor corporal debida a la desaparición de la actividad muscular, así como a un efecto depresor directo sobre los mecanismos noradrenérgicos hipotalámicos implicados en la termorregulación (Pypendop y Verstegen 2001). La reducción de temperatura observada en el grupo A_5 podría deberse además a una pérdida de calor incrementada por el efecto vasodilatador suave de la alfaxalona (Whittem y cols. 2008, Muir y cols. 2009).

Aunque la recuperación de los animales experimentales se produjo en la mayoría de casos, de manera suave y gradual se observaron algunos efectos adversos que fueron

considerados como leves. Así destacaron episodios de hiperquinesia en algunos gatos de los grupos A_5 y $D_{40}A_5$, mientras que la emesis fue el principal problema detectado durante la recuperación en dos individuos del grupo $D_{20}A_5$. Estudios previos describen recuperaciones de excelente calidad incluso tras la administración endovenosa de alfaxalona a dosis elevadas de 5 y 15 mg/kg (Muir y col. 2009). Zaki y cols. (2009) demostraron la mejora de la calidad de la recuperación anestésica en gatos jóvenes, cuando la alfaxalona endovenosa se combinaba con acepromacina y butorfanol, debido a la reducción en los requerimientos de la dosis de inducción de alfaxalona, y al efecto sedante de la acepromacina y butorfanol empleados para la premedicación. Un efecto colateral ampliamente descrito en gatos tras el uso de dexmedetomidina intramuscular es el vómito (Granholm y cols. 2006, McSweeney y cols. 2012). Grubb y cols. (2013) comprobaron que la combinación de alfaxalona y dexmedetomidina presentaba una incidencia elevada de hiperreactividad, ataxia y excitación durante la fase de recuperación. Nuestros resultados parecen mostrar que el uso de dexmedetomidina a las dosis empleadas en esta Tesis, reduce la incidencia de movimientos de "pedaleo" y espasmos potencialmente producidos por la alfaxalona, lo que podría resultar en una mejor calidad de recuperación, frente a lo descrito por los otros autores que emplearon dosis de dexmedetomidina reducidas.

5.2. Experiencia 2: Estudio farmacocinético–farmacodinámico

Administración intravenosa de alfaxalona

Las características farmacocinéticas de alfaxalona tras la administración intravenosa ya han sido estudiadas en distintas especies animales como rata (Visser y cols. 2002, Lau y cols. 2013), perro (Ferre y cols. 2006, Pasloske y cols. 2009), gato (Whittem y cols. 2008) y caballo (Goodwin y cols. 2011, 2012), pero hasta el momento no se habían descrito tras una administración intramuscular en la especie felina. No obstante, si existen estudios de carácter clínico que han utilizado la vía intramuscular en esta especie, en los que se demuestra que se puede inducir sedación profunda e incluso anestesia dependiendo de la dosis utilizada (Evans y cols. 1972, Grubb y col. 2013, Tamura y cols. 2015b)

Whittem y cols. (2008) investigaron la farmacocinética de la alfaxalona tras su administración intravenosa de 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 aumenta, 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, sucede por tanto cuando la absorción, distribución, metabolismo o eliminación (LADME) de un fármaco no obedece a procesos de primer orden. La interpretación clínica de no-linealidad es 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 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 tras 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 en potros (Ferre y cols. 2006; Whittem y cols. 2008; Goodwin y cols. 2011, 2012) y con otros anestésicos en distintas especies (Kay y cols. 1986, Zoran y cols. 1993, Hudson y cols. 1994, Bettschart-Wolfensberger y cols. 1996). En el presente estudio, se observó en línea con estas descripciones un segundo pico en algunos animales (gatos 2, 3 y 5), y cierta fase de “plateau” en los restantes gatos, entre los 15 y

30 minutos tras de la administración. La causa de este fenómeno de rebote es incierta, aunque se han propuesto varias hipótesis para explicarla. Nicholas y cols. (1981) propusieron que una porción de la dosis es secuestrada en pulmón y posteriormente liberada a las venas pulmonares. Otros autores 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 y cols. 1986, Bettschart-Wolfensberger y cols. 1996). Por su parte, Whittem y cols. (2008) y Goodwin y cols. (2012) han propuesto que en el caso de la alfaxalona este efecto puede ser debido a la formación del metabolito 3β - hidroxialfaxalona, que la técnica analítica no sería capaz de diferenciar, ya que posee el mismo peso molecular y tiempo de retención que la alfaxalona. No obstante, esta última afirmación es una mera especulación ya 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 su administración intravenosa en el gato se muestran en la Tabla 9. A continuación se discuten los parámetros más representativos.

El tiempo de vida media de la fase de disposición lenta ($t_{½\lambda z}$), considerado como tiempo de vida media o semivida del fármaco (Gibaldi y Perrier, 1982) fue de 0.73 horas (44 minutos). El tiempo de vida media del presente estudio, fue superior al descrito en rata de 14.0 y 17.2 minutos por Visser y cols. (2002) y Lau y cols. (2013), en perros galgos (31.2 - 38.0 minutos) (Pasloske y cols. 2009) y perros de raza Beagle (24.0 minutos) (Ferre y cols. 2006). Sin embargo en gatos a los que se administró la misma dosis que la utilizada en nuestra Tesis, el valor medio encontrado fue similar de

45 minutos, pero dentro de un rango comprendido entre 29.6 y 107.6 minutos (Whittem y cols. 2008), lo que demostraría 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 de metabolismo hepático (Perrier y Gibaldi 1974, Baggot y Short 1974, Klotz 2009, Godwin y cols. 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 0.84 horas, correspondiente a 50.4 minutos (Tabla 9). Este valor es similar al obtenido para gatos en estudios previos (53.2 min) (Whittem y cols. 2008), y superior a los descritos en perro (29.7 min) (Ferre y cols. 2006) y potros (43.2 min) (Goodwin y cols. 2012), lo que también 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 gatos, alcanza un valor de 1.55 L/kg, en tanto que el volumen de distribución en estado estacionario (V_{ss}) adquiere un valor de 1.25 L/kg, obtenidos ambos valores por métodos no compartimentales (Tabla 9). 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 y cols. (2008), es similar al encontrado en nuestro estudio (1.8 L/kg), a igualdad de dosis, lo que indicaría una distribución similar en ambos estudios. Sin embargo, a la dosis de 25 mg/kg el V_z es claramente superior (2.1 L/kg), lo que refuerza nuestra aseveración acerca de que la farmacocinética de alfaxalona en la especie felina es de tipo no lineal, y por ello varía con la dosis administrada. En rata, Lau y cols. (2013) encontraron un valor medio también similar 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 indicaría una gran variabilidad de los datos sobre todo tras la dosis 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 y cols. 2009) y en perros Beagle de 2.4 ± 1.9 L/kg (Ferre y cols. 2006), valores superiores a los observados en el presente estudio en gatos a pesar de que las dosis administradas fueron inferiores (2 mg/kg).

En caballos adultos (Goodwin y cols. 2011) y en potros (Goodwin y cols. 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 del estudio realizado por Goodwin y cols. (2012) en potros menores de 2 semanas de edad, es destacable el limitado volumen de distribución obtenido, que podría explicarse por la alta liposolubilidad de alfaxalona y la menor proporción lípidos:agua en el organismo

de individuos neonatos, al igual que sucede con otros fármacos como el diazepam (Norman y cols. 1977).

El área bajo la curva de nivel plasmático (AUC) es un parámetro que nos permite calcular el aclaramiento plasmático, el volumen de distribución 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 el presente estudio. El AUC es también proporcional a la dosis de fármaco administrado. El valor de AUC obtenido para alfaxalona en gatos ha sido de 3385.57 μg·h/L (Tabla 9) que corresponde a 203.13 mg·min/L. El AUC obtenido en el presente estudio es similar al obtenido en gatos en un estudio previo (202.1 mg·min/L) (Whittem y cols. 2008), y superior al obtenido en ratas (93.3 mg·min/L) (Lau y cols. 2013) tras la administración intravenosa de la misma dosis. Sin embargo, cuando se administró alfaxalona a caballos adultos (1 mg/kg) (Goodwin y cols. 2011) y a potros neonatos (3 mg/kg) (Goodwin y cols. 2012) premedicados, el valor de AUC fue de 29.0 y 160.5 mg·min/L, respectivamente. Se puede observar que precisamente en los estudios en que mayor dosis se utilizó, se obtienen valores de AUC más altos, aunque sin existir proporcionalidad entre estos datos debido a la cinética no lineal ya mencionada que experimenta la alfaxalona, así como a las previsibles diferencias de metabolismo derivadas de la inmadurez enzimática en neonatos.

En perros de raza Beagle se han encontrado valores de AUC de 35.5 y 198.0 mg·min/L tras la administración de dosis de 2 y 10 mg/kg (Ferre y cols. 2006), en este

caso existe proporcionalidad entre ambos datos, pero si se corrigiesen respecto a la dosis resultarían ser inferiores a los obtenidos en gato. En galgos se obtuvo un valor medio de 49.6 (20.1 - 64.0) mg·min/L tras la administración de 2 mg/kg de alfaxalona (Pasloske y cols. 2009), por lo que en estos animales existiría mayor exposición al fármaco, a igualdad de dosis, que en perros de raza Beagle debido a sus conocidas características de metabolismo y eliminación más lentos (Zoran y cols. 1993).

La concentración inicial (C_0) alcanzada por alfaxalona tras su administración vía intravenosa a la dosis de 5 mg/kg en gatos, ha sido de 5651.85 µg/L (5.65 mg/L). Este dato es confundido en la mayoría de los estudios publicados en los que se describe la farmacocinética de alfaxalona. En estos estudios (excepto Lau y cols. 2013), la concentración inicial C_0 se identifica con la concentración plasmática máxima (C_{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_{max}, son proporcionales a la dosis y por tanto varían cuando se aplican distintas pautas posológicas. Así en perro, Ferre y cols. (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 similares a los obtenidos en el gato. Sin embargo en rata, Visser y cols. (2002) han encontrado valores superiores de 10675.1 y 17095.0 µg/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, superiores a los del presente estudio si tenemos en consideración que las dosis administradas fueron inferiores a las empleadas en gatos.

El aclaramiento plasmático en función del área bajo la curva (Cl) y obtenido mediante análisis no compartimental que se ha obtenido en este estudio, ha sido de 1.53

L/kg·h (Tabla 9), que corresponde a 25.5 mL/kg·min. Este valor es similar al obtenido tras la administración de la misma dosis en gato (25.1 mL/kg·min) (Whittem y cols. 2008), pero bastante inferior al obtenido en rata de 54.3 mL/kg·min (Lau y cols. 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 y cols. 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 y cols. 2006). En el caso de caballos adultos (1 mg/kg) (Goodwin y cols. 2011) y potros neonatos (3 mg/kg) (Goodwin y cols. 2012) el aclaramiento obtenido es 37.1 y 19.2 mL/kg·min, respectivamente, se constata 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). En el ámbito clínico, es útil para calcular la velocidad de infusión necesaria para mantener unas concentraciones plasmáticas en estado estacionario del fármaco. 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 y cols. 2008), siendo este de 5 - 10 % cuando el aclaramiento es de 25.1 mL/kg·min. El aclaramiento de alfaxalona en perro 59.4 mL/kg·min es 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 y cols. 2006). En la rata con un valor de 71.9 mL/kg·min supone el 33% del gasto cardiaco (Visser y cols. 2000). 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 y cols. 2011).

A pesar de 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 clave en la recuperación anestésica tras el uso de alfaxalona (Sear y McGivan 1981). Este aspecto fue comprobado así mismo por Whittem y cols (2008), en un estudio 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.

Los resultados obtenidos en el gato 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, además varían de unos estudios a otros (ej. Aplicación de estímulos o no durante los procedimientos de evaluación). En los gatos del estudio 2, tras la administración de 5 mg/kg de alfaxalona por vía intravenosa el tiempo de duración de la anestesia medido hasta la elevación de la cabeza fue de 58.19 minutos y se recuperó la posición de estación en un tiempo medio de 65.88 minutos. En esta especie, y tras administrar la misma dosis y vía, el tiempo de duración de la anestesia medido desde la intubación hasta la elevación espontanea de la cabeza fue más corto, en

torno a 45 minutos, sin aplicación de ningún estímulo doloroso. Contrariamente, cuando se aplicó estimulación dolorosa para simular una situación quirúrgica, y el régimen de dosificación se ajustó a un bolo de 5 mg/kg, seguido de cuatro dosis de mantenimiento de 2 mg/kg, la duración de efecto fue de sólo 7 minutos (Whittem y cols. 2008). En perros de raza Beagle, la duración de la anestesia medida desde la intubación hasta la extubación fue de 6.4 ± 2.9 min y 26.2 ± 7.5 min tras la administración de dosis de 2 y 10 mg/kg, respectivamente (Ferre y cols. 2006). En el caso de galgos la duración de la anestesia fue similar a la obtenida en Beagles, 7.1 ± 1.7 min con una dosis de 2 mg/kg (Pasloske y cols. 2009). Sin embargo, Child y cols. (1971) obtuvieron tiempos más prolongados de 20 ± 3 y 206 ± 8 minutos, tras la administración de 1.2 y 10.8 mg/kg respectivamente de alfaxalona formulada con alfadolona.

En caballos adultos premedicados con acepromazina, xilacina y guaifenesina, el tiempo de duración de la anestesia a dosis de 1 mg/kg de alfaxalona, desde la inducción hasta la recuperación de posición de decúbito esternal fue de 42.7 ± 8.4 min, y hasta la levantada de 47.0 ± 9.6 min. Sin embargo, en potros premedicados con butorfanol y con 3 mg/kg de alfaxalona, los tiempos medios desde la inducción hasta lograr el decúbito esternal o la posición en estación fueron de 34.9 ± 5.6 y 37.2 ± 4.7 minutos, respectivamente.

En cuanto a la correlación entre las concentraciones plasmáticas y el nivel de sedación alcanzado en la parte 2 de este estudio, se considera que se consigue un estado compatible con anestesia general cuando las concentraciones plasmáticas de media se encuentran por encima de 2.5 ± 0.2 mg/L, y un estado de sedación profunda cuando éstas se encuentran entre el nivel anterior y 2.4 ± 0.6 mg/L.

Administración intramuscular de alfaxalona

El comportamiento farmacocinético de alfaxalona tras la administración intramuscular no ha sido descrito en ninguna especie animal hasta el momento, aunque si se han descrito sus efectos farmacológicos y su eficacia clínica (Kischinovsky y cols. 2012; Grubb y col. 2013; Ribas y col. 2015; Santos y col. 2015; Tamura y cols. 2015a, 2015b). Por ello, la discusión acerca de los resultados obtenidos acerca de los parámetros farmacocinéticos en esta parte de nuestro estudio, se establecerán con respecto a los resultados obtenidos tras la administración intravenosa de alfaxalona en la especie felina.

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 gato se muestran en la Tabla 10.

El valor de vida media obtenido tras la administración intramuscular ha sido de 1.33 horas correspondiente a 80 minutos (Tabla 10). Este valor resulta estadísticamente más prolongado que el encontrado tras la administración intravenosa, que fue de 0.73 horas (Tabla 9), lo que es indicativo, a priori, de que el proceso de absorción influye y 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, alcanzó un valor de 2.11 horas (Tabla 10). Este parámetro es 2.5 veces mayor que el descrito tras la administración intravenosa (MRTiv = 0.84 horas; Tabla 9). Esto es debido a que el parámetro MRTev 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, se está 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 la Tabla 10, se presentan los valores correspondientes al MRT tras administración intramuscular y al tiempo medio de absorción (MAT); en tanto que el MRT intravenoso aparece en la Tabla 9. A la vista de los resultados obtenidos para cada uno de estos parámetros en los distintos animales, se puede apreciar como todos los animales presentaron un valor de MAT superior al MRT intravenoso (excepto el gato 2). Si se consideran los valores medios obtenidos, se aprecia como el MRT intravenoso (0.84 horas) es casi 1.5 veces inferior al MAT intramuscular (1.27 horas). De ello, se deduce que según este parámetro se produce un fenómeno flip-flop, es decir, el proceso de absorción de la alfaxalona tras su administración intramuscular, condiciona su permanencia y eliminación en el gato.

Otro parámetro a tener en cuenta tras la administración intramuscular es el tiempo en que se alcanza la concentración plasmática máxima o tiempo máximo (tmáx). El valor de este parámetro ha sido de 21 minutos (0.35 horas) (Tabla 10). El tmáx 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 en el gato el proceso de absorción desde el punto de inyección intramuscular es rápido.

Datos farmacocinéticos de la alfaxalona tras el uso de vías extravasculares, solo existen en rata tras su administración intraperitoneal a dosis de 20 mg/kg (Lau y cols.

2013). En este estudio se describe un valor de t_{max} de 12 minutos, valor ligeramente inferior al obtenido en la presente experiencia, que indican una absorción más rápida tras la administración intraperitoneal, por otra parte completamente lógica.

La concentración plasmática máxima ($C_{máx}$) obtenida en el grupo alfaxalona intramuscular en nuestro estudio, ha sido de 1099.86 µg/L (Tabla 10). En rata, y tras la administración intraperitoneal de una dosis mucho más elevada (20 mg/kg), se obtuvo un valor medio de $C_{máx}$ de 2.99 mg/L, presentando una gran variabilidad comprendida entre 3.5 y 6.6 mg/L (Lau y cols. 2013). Este valor resulta ser 2.7 veces superior al valor obtenido en gato, mostrando, por tanto, si se realizan correcciones por las distintas dosis utilizadas en uno y otro caso, una absorción más extensa tras la administración intramuscular. En nuestro experimento, la concentración inicial alcanzada por vía intravenosa (C_0), resultó aproximadamente 5 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 alcanzó un valor de 3027.63 µg·h/L (181.66 mg·min/L). Lau y cols. (2013) tras la administración intraperitoneal de una dosis 4 veces superior obtuvieron un valor mucho más bajo de 96.19 mg·min/L (78.3 - 105.9 mg·min/L) lo que indica que por esta vía y en esta especie, la biodisponibilidad de la alfaxalona fue menos extensa que la alcanzada tras la administración por vía intramuscular en el gato.

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, y por ello se utiliza como referencia (Gibaldi y Perrier 1982, Wagner 1983). La ecuación utilizada para su cálculo es la siguiente:

$$F = \frac{AUC_{i.m.} \cdot D_{i.v.}}{AUC_{i.v.} \cdot D_{i.m.}} \cdot 100$$

La biodisponibilidad de alfaxalona tras su administración intramuscular en el gato ha sido muy elevada, alcanzando el 91.32 % de la dosis administrada.

En el caso de la rata tras la administración intraperitoneal de 20 mg/kg (Lau y cols. 2013) se obtuvieron valores de 26 y 28 % cuando utilizan como referencia el AUC obtenido con la dosis intravenosa de 2 y 5 mg/kg respectivamente. En realidad, este cálculo sería 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 de alfaxan por ruta intraperitoneal debido al importante efecto de primer paso mediante metabolismo hepático (Child y cols. 1972, Sear y McGivan 1981), ya que la alfaxalona tras la administración intraperitoneal alcanzaría la circulación portal (Lukas y cols. 1971).

En la experiencia 2 de este estudio, tras la administración de una dosis intramuscular de 5 mg/kg de alfaxalona, el tiempo de recuperación medido como el momento tras la inducción donde los gatos logran de forma espontanea la posición

esternal fue de 79.31 ± 21.75 min y la posición en estación a los 84.23 ± 20.24 min. En el grupo intramuscular, se obtuvieron además sedaciones profundas de forma más tardía que en el grupo intravenoso, aunque no se alcanzó un grado de anestesia quirúrgica. De media, se consigue una sedación moderada en los primeros 15 minutos cuando las concentraciones de alfaxalona van aumentando conforme se produce la absorción hasta aproximadamente de 0.9 ± 0.2 mg/L; una sedación profunda a partir del minuto 10 al 45 donde estas concentraciones estuvieron comprendidas entre el valor anterior y 1.0 ± 0.1mg/L; de nuevo sedación suave a partir del minuto 45 al 60 donde las concentraciones bajan hasta 0.9 ± 0.1mg/L; y, finalmente, sedación nula a partir del minuto 90, momento en el cual, subjetivamente no se observó efecto sedante aunque aún existían concentraciones plasmáticas detectables de 0.78 ± 0.08 mg/L (Tabla 6, Gráfico 1).

6. CONCLUSIONES

1. La administración intramuscular de alfaxalona en gatos a dosis de 5 mg/kg a nivel de la musculatura epaxial lumbar no provoca un dolor reseñable y permite una absorción efectiva del fármaco.
2. La administración intramuscular de alfaxalona en gatos a dosis de 5 mg/kg genera una sedación de carácter moderada a profunda y, en algunos casos, es posible que derive en un estado compatible con anestesia general.
3. La adición de dexmedetomidina (20 y 40 µg/kg) en combinación con alfaxalona administrada por vía intramuscular en gatos produce un estado compatible con anestesia general.
4. La administración de alfaxalona en gatos a dosis de 5 mg/kg produce alteraciones mínimas a nivel cardiorrespiratorio.
5. La combinacion de dexmedetomidina (20 y 40 µg/kg) y alfaxalona (5 mg/kg) en gatos produce ligera bradicardia, hipocapnia moderada y un descenso leve en las lecturas de pulsioximetría que harían recomendable la suplementación con oxígeno.
6. Tras la administración intravenosa de alfaxalona en gatos a dosis de 5 mg /kg se detecta 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. El tiempo de vida media fue de 43.7 ± 12.0 minutos proporcional a su aclaramiento desde el plasma (25.52 ± 5.23 mL/kg/min) y mostró un amplio volumen de distribución (1.55 ± 0.21 L/kg). La administración endovenosa de alfaxalona produjo una anestesia de inducción rápida y corta (15 minutos), pero con buena relajación muscular.

7. La administración intramuscular de alfaxalona a 5 mg/kg presenta un valor de vida media de 79.9 ± 9.2 min significativamente más prolongado que el obtenido tras la administración endovenosa. Esto es debido a que el tiempo medio de absorción tras la administración intramuscular es 1.5 veces superior al tiempo medio de residencia tras la ruta endovenosa, lo que demuestra que la alfaxalona sigue un modelo flip-flop en el que la absorción desde el lugar de inyección constituye un factor limitante de la eliminación.
8. El tiempo en alcanzar la concentración plasmática máxima tras la administración intramuscular de alfaxalona en gatos a dosis de 5 mg/kg es relativamente rápido (21 minutos) consiguiendo niveles de concentración 5 veces inferiores a los de la administración intravenosa pero que se mantienen de forma más prolongada en el tiempo.
9. La biodisponibilidad de alfaxalona tras su administración intramuscular a dosis de 5 mg/kg en gatos es muy elevada (91.32%).

7. RESUMEN

8.1. Primera experiencia: el efecto clínico de la administración intramuscular de alfaxalona sola o en combinación con dexmedetomidina

El propósito del estudio fue investigar el efecto sedante y/o anestésico, así cómo la influencia a nivel del sistema cardiorrespiratorio de la administración intramuscular de alfaxalona sola o en combinación con la dexmedetomidina en gatos.

Se realizó un estudio cruzado, aleatorio y ciego con un período de descanso entre procedimientos de 15 días. Siete gatos adultos (peso 3.5 ± 0.7 kg; edad 3.8 ± 0.9 años) fueron asignados al azar en cada uno de los tres grupos de tratamiento: A_5 (alfaxalona 5 mg/kg), $D_{20}A_5$ (dexmedetomidina 20 µg/kg y alfaxalona 5 mg/kg) y $D_{40}A_5$ (dexmedetomidina 40 µg/kg y alfaxalona 5 mg/kg). Los fármacos se administraron a nivel de los músculos epaxiales lumbares. El grado de sedación y/o anestesia se evaluó mediante una escala numérica modificada. Se registraron, entre otros, los tiempos hasta decúbito esternal y/o lateral, así como los tiempos hasta la intubación, inicio y duración de la sedación/anestesia, y durante la recuperación los tiempos de extubación, levantamiento de cabeza, decúbito esternal y de estación. La frecuencia cardiaca, respiratoria, presión arterial sistólica, saturación arterial de oxígeno de la hemoglobina, tensión espiratoria final de dióxido de carbono y la temperatura rectal fueron registradas a los 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120 y 150 minutos tras la administración de los fármacos. Se observó, finalmente, la aparición de reacciones adversas. Los datos fueron analizados por medio del análisis estadístico ANOVA de una sola vía con la prueba post-hoc de Tukey en los

parámetros con una distribución normal. Para los parámetros no distribuidos normalmente, se utilizaron las pruebas de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney U-test para dos muestras de carácter independiente ($p < 0.05$).

Las valoraciones alcanzadas de sedación/anestesia fueron significativamente diferentes entre los distintos tratamientos. Los gatos del grupo A_5 consiguieron alcanzar una sedación moderada a profunda, mientras que los gatos que recibieron dexmedetomidina alcanzaron siempre un estado compatible con una anestesia general. El inicio del efecto y la duración de la anestesia estaban relacionados con la dosis empleada de dexmedetomidina. Los parámetros cardiorrespiratorios se mantuvieron estables en el grupo A_5. Se observaron frecuencias cardíacas más bajas, presión arterial sistólica más elevada y unos niveles de pulsioximetría más reduciods en los grupos en los que se recibieron dexmedetomidina. La incidencia de eventos adversos tipo hiperquinesia o emesis fue reducida durante la recuperación.

En conclusion, la alfaxalona a 5 mg/kg administrada por vía intramuscular induce un estado de sedación moderada a profunda en gatos. Al administrar dexmedetomidina a 20 y 40 µg/kg junto con alfaxalona se consigue alcanzar un estado compatible con anestesia general.

8.2. Segunda experiencia: estudio farmacocinético-farmacodinámico

El objetivo del estudio fue investigar la farmacocinética de alfaxalona tras la administración endovenosa e intramuscular, además de correlacionar los resultados obtenidos con el efecto sedante y/o anestésico en gatos.

Se realizó un estudio experimental cruzado, en el que se administró alfaxalona (5 mg/kg) endovenosa e intramuscular en 5 gatos de pelo corto de la raza común europea (peso 4.2 ± 0.5 kg; edad 3.8 ± 0.9 años). Las inyecciones intramusculares se administraron a nivel de los músculos epaxiales lumbares. Las muestras de sangre se recogieron a partir de un catéter colocado en la vena yugular. Las concentraciones plasmáticas fueron medidas gracias un método de cromatografía líquida de alto rendimiento con detección de fluorescencia. Las curvas de la concentración plasmáticas en relación al tiempo se analizaron por medio de métodos no compartimentales utilizando el software WinNonlin V.5.1.1. La sedación y/o anestesia alcanzada se evaluó mediante una escala numérica modificada descrita anteriormente. Los datos se expresan como la media junto con la desviación estándar. Los parámetros farmacocinéticos fueron analizados por medio del análisis estadístico T-student para datos paramétricos y la prueba de Wilcoxon mediante suma de rangos para los datos no paramétricos. Los efectos clínicos fueron analizados mediante la prubea de Kruskal-Wallis y Mann Whitney ($p < 0.05$).

La absorción después de la administración IM fue moderadamente rápida (t_{max} 0.35 ± 0.14 horas), alcanzando una C_{max} de 1.099,86 ± 157.36 µg/L. La biodisponibilidad fue del 91.32 ± 9.73%. La semivida (1.33 ± 0.15 horas) y el tiempo medio de residencia (2.11 ± 0.32 horas) fueron significativamente más elevados tras la administración intramuscular en comparación con la vía intravenosa (0.73 ± 0.20 y 0.84 ± 0.21 horas, respectivamente) (p = 0.0012; 0.0024). El tiempo medio de absorción demostró que la alfaxalona tras la administración intramuscular sigue un modelo flip flop en el cual el proceso de absorción constituye el factor limitante de la eliminación. Por ello la vida media del fármaco se prolonga significativamente tras la administración intramuscular en comparación con la administración intravenosa. El aclaramiento después de la administración endovenosa fue de 1.53 ± 0.31 L/kg/h. La biodisponibilidad de alfaxalona tras su administración intramuscular a una dosis de 5 mg/kg en gatos fue muy elevada (91.32%). Se observó un efecto anestésico rápido y profundo de una duración de 15 minutos tras la administración endovenosa. Mientras que el uso intramuscular de alfaxalona mostró un efecto más lento y compatible con una sedación profunda desde el minuto 15 hasta el 45.

El perfil farmacocinético de alfaxalona tras la administración intramuscular se correlacionó adecuadamente con un inicio y una duración del efecto clínico observado en este estudio.

8. SUMMARY

8.1. First experience: Clinical effect of intramuscular administration of alfaxalone alone or incombination with dexmedetomidine

The purpose of this study was to investigate the sedative, anaesthetic and cardiorespiratory effects of intramuscular administration of alfaxalone alone or in combination with dexmedetomidine in cats.

A blinded, randomized crossover study with a washout period of 15 days. Seven adult cats (body weight 3.5 ± 0.7 kg; age 3.8 ± 0.9 years) were assigned randomly to each of three treatments: A_5 (alfaxalone 5 mg kg^{-1}), $D_{20}A_5$ (dexmedetomidine 20 µg kg^{-1} and alfaxalone 5 mg kg^{-1}) and $D_{40}A_5$ (dexmedetomidine 40 µg kg^{-1} and alfaxalone 5 mg kg^{-1}). Drugs were administered intramuscularly into the epaxial muscles. Sedation or anaesthesia scores were evaluated by a modified numerical rating scale. Times to extubation, head-lift, sternal recumbency and standing were recorded. Heart and respiratory rates, systolic arterial pressure, arterial oxygen saturation of haemoglobin, end-tidal carbon dioxide tension and rectal temperature were measured at 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120 and 150 minutes after drug administration. Adverse events were recorded. Data were analysed by one-way ANOVA with Tukey's post-hoc test for parametric values and, for non-normally distributed parameters, aKruskal–Wallis test and Mann–Whitney U-test for two independent samples ($p < 0.05$).

Sedation scores were significantly different among the treatments. Cats in A_5 were moderately to deeply sedated, whereas cats receiving dexmedetomidine reached a state compatible with general anaesthesia. The onset

of action and the duration of anaesthesia were related to the dose of dexmedetomidine. Cardiorespiratory parameters remained stable in the A_5 group. Lower heart rates, higher systolic blood pressures and occasional low pulse oximetry readings were observed in the dexmedetomidine groups. A limited number of adverse events (hyperkinesia, emesis) occurred during recovery.

Alfaxalone administered intramuscularly at 5 mg kg^{-1} induced moderate to deep sedation in cats. The addition of dexmedetomidine at 20 and 40 µg kg^{-1} to alfaxalone induced general anaesthesia.

8.2. Second experience: Pharmacokinetic and Pharmacodynamic study

The aim of this study was to investigate the pharmacokinetics of alfaxalone after intravenous and intramuscular administration and to correlate the results with the observed sedative or anaesthetic effects in cats.

In a crossover experimental study, alfaxalone (5 mg kg^{-1}) was administered intravenously and intramuscularlyin 5 European shorthair cats (body weight 4.2 ± 0.5 kg; age 3.8 ± 0.9 years). The intramuscular injections were administered in the epaxial muscles. Blood samples were collected from the jugular vein at predetermined times and plasma concentrations measured by a high performance liquid chromatography method with fluorescence detection. The plasma concentration-time curves were analysed by non-compartmental methods using WinNonlin v.5.1.1. The achieved sedation/anaesthesia was evaluated by a modified numerical scale previously described. Data are expressed as mean ± SD. Pharmacokinetics parameters were analyzed by a t-student for parametric and a Wilcoxon Rank Sum test for non-parametric data, and clinical effects by Kruskal-Wallis and Mann Whitney U tests ($p < 0.05$).

Absorption after intramuscular administration was moderately rapid (t_{max} 0.35 ± 0.14 hours) reaching a C_{max} of 1,009.86 ± 157.36 µg L^{-1}. Bioavailability was 91.32 ± 9.73%. Mean half-life (1.33 ± 0.15 h) and mean residence time (2.11 ± 0.32 h) were significantly longer after intramuscular compared to intravenous administration (0.73 ± 0.20 and 0.84 ± 0.21 h, respectively) ($p = 0.0012$; 0.0024). Mean absorption time showed that the disposition of alfaxalone after

intramuscular administration follows a flip-flop model, in which absorption is a limitant factor for drug elimination. For that reason, mean half-life is significantly prolonged after intramuscular compared to intravenous administration. Clearance after intravenous administration was 1.53 ± 0.31 L kg^{-1} h^{-1}. Alfaxalone bioavailability following intramuscular administration at a dose of 5 mg kg^{-1} in cats was very high (91.32%). A rapid and profound anaesthetic effect lasting 15 minutes was observed after intravenous administration. Intramuscular alfaxalone showed a slower effect compatible with deep sedation from 15 to 45 minutes.

Pharmacokinetic profile of alfaxalone after intramuscular administration was correlated with the onset of action and duration of the sedative effects observed in this study.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Aantaa, R. E., Kanto, J. H., Scheinin, M. y cols. (1990) Dexmedetomidine Premedication for Minor Gynecologic Surgery. Anesthesia and Analgesia. 70: 407–413.

2. Aantaa, R. and Scheinin, M. (1993) Alpha 2-adrenergic agents in anaesthesia. Acta Anaesthesia Scandinavia 37: 433-448.

3. Adami, C., Imboden, T., Giovannini, A. E. y cols. (2015) Combinations of dexmedetomidine and alfaxalone with butorphanol in cats: application of an innovative stepwise optimisation method to identify optimal clinical doses for intramuscular anaesthesia. Journal of Feline Medicine and Surgery (http://doi.org/10.1177/1098612X15596563)

4. Aho, M., Lehtinen, A. M., Erkola, O. y cols. (1991) The Effect of Intravenously Administered Dexmedetomidine on Perioperative Hemodynamics and Isoflurane Requirements in Patients Undergoing Abdominal Hysterectomy. Anesthesiology 74: 997–1002.

5. Ambros, B., Duke-Novakovski, T. and Pasloske, K. S. (2008) Comparison of the anesthetic efficacy and cardiopulmonary effects of continuous rate infusions of alfaxalone-2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin and propofol in dogs. American Journal of Veterinary Research 69: 1391-1398.

6. Amengual, M., Flaherty, D., Auckburally, A. y cols. (2013) An evaluation of anaesthetic induction in healthy dogs using rapid intravenous injection of propofol or alfaxalone. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 40: 115–123.

7. Andaluz, A., Santos, L., García, F. y cols. (2013) Maternal and Foetal Cardiovascular Effects of the Anaesthetic Alfaxalone in 2 –

Hydroxypropyl – β - cyclodextrin in the pregnant Ewe. The Scientific World Journal 2013: 1–6.

8. Ansah, O. B., Raekallio, M. and Vainio O (1998) Comparison of three doses of dexmedetomidine with medetomidine in cats following intramuscular administration. Journal of Veterinary Pharmacology Therapeutics 21: 380–387.

9. Baggot, J.D. and Short, C.R. (1984) Drug disposition in the neonatal animal, with particular reference to the foal. Equine Veterinary Journal 16, 361-363.

10. Bajwa, S. J. and Kulshrestha, A. (2013) Dexmedetomidine: An adjuvant making large in roads into clinical practice. Annals of Medicine Health Sciences Research 3: 475–14.

11. Bakker, J., Uilenreef, J. J., Pelt, E. R. y cols. (2013) Comparison of three different sedative - anaesthetic protocols (ketamine, ketamine-medetomidine and alphaxalone) in common marmosets (Callithrix jacchus). BMC Veterinary Research 9: 113.

12. Baxter, J. S. and Evans, J. M. (1973) Intramuscular injection in the cat. Journal of Small Animal Practice 14: 297–302.

13. Belleville, J. P., Ward, D. S., Bloor, B. C. y cols. (1992) Effects of intravenous dexmedetomidine in humans. I. Sedation, ventilation, and metabolic rate. Anesthesiology 77: 1125–1133.

14. Bertelsen, M. F. and Sauer, C. D. (2011) Alfaxalone anaesthesia in the green iguana (Iguana iguana). Veterinary Anaesthesia and Analgesia 38: 461–466.

15. Beths T, Touzot-Jourde G, Musk G.y cols. (2014) Clinical evaluation of alfaxalone to induce and maintain anaesthesia in cats undergoing neutering procedures. Journal of Feline Medicine and Surgery 16: 609–615.

16. Bettschart-Wolfensberger, R., Taylor, P.M., Sear, J.W. y cols (1996) Physiological effect of anesthesia induced and maintained by intravenous administration of climazolam-ketamine combination in ponies premedicated with acepromazine and xylazine. American Journal of Veterinary Research 57: 1472-1477.

17. Bettschart-Wolfensberger, R., Freeman, S. L., Bowen, I. M. y cols. (2005) Cardiopulmonary effects and pharmacokinetics of intravenous dexmedetomidine in ponies. Equine Veterinary Journal 37: 60–64.

18. Blake, D.W. and Korner, P. I. (1981) Role of baroreceptor reflexes in the hemodynamic and heart rate responses to althesin, ketamine and thiopentone anesthesia. Journal of Autonomous Nervous System 3: 55-70.

19. Bloor, B. C., Frankland, M., Alper, G. y cols. (1992a) Hemodynamic and Sedative Effects of Dexmedetomidine in Dog. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 263: 690–697.

20. Bloor, B. C., Ward, D. S., Belleville, J. P. y cols. (1992b). Effects of intravenous dexmedetomidine in humans. II. Hemodynamic changes. Anesthesiology 77: 1134–1142.

21. Bol, C., Danhof, M., Stanski, D. R. y cols. (1997) Pharmacokinetic - pharmacodynamic characterization of the cardiovascular, hypnotic, EEG and ventilatory responses to dexmedetomidine in the rat. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 283: 1051–1058.

22. Bösing, B., Tünsmeyer, J., Mischke, R. y cols. (2012) Clinical usability and practicability of Alfaxalone for short-term anaesthesia in the cat after premedication with Buprenorphine. Tierärztliche Praxis. Ausgabe K, Kleintiere/Heimtiere. 40:17–25.

23. Bouts, T., Karunaratna, D., Berry, K. y cols. (2011) Evaluation of Medetomidine-Alfaxalone and Medetomidine - Ketamine in Semi-Free Ranging Bennett's Wallabies (Macropus rufogriseus). Journal of Zoo and Wildlife Medicine 42: 617–622.

24. Box, P. G. and Ellis, K. R. (1973) Use of CT1341 anaesthetic ("Saffan") in monkeys. Laboratory Animals 7: 161–170.

25. Brewster, M. E., Estes, K. S. and Bodor, N. (1989) Development of a non-surfactant formulation for alfaxalone through the use of chemically - modified cyclodextrins. PDA Journal of Parenteral Science and Technology 43: 262–265.

26. Brewster, M. E., Estes, K. S. and Bodor, N. (1990) An intravenous toxicity study of 2 – hydroxypropyl – β - cyclodextrin, a useful drug solubilizer, in rats and monkeys. International Journal of Pharmaceutics 59: 231–243.

27. Bylund, D. (1985) Heterogeneity of alpha - 2 adrenergic receptors. Pharmacology Biochemistry Behavior 22: 835–843.

28. Campagna, I., Schwarz, A., Keller, S. y cols. (2015). Comparison of the effects of propofol or alfaxalone for anaesthesia induction and maintenance on respiration in cats. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 42: 484–492.

29. Campbell, D., Forrester, A. C., Miller, D. C. y cols.. (1971). A preliminary clinical study of CT 1341 – A steroid anaesthetic agent. British Journal of Anaesthesia 43: 14–24.

30. Carmona, S. Q., Navarrete-Calvo, R., Granados, M. M. y cols. (2014) Cardiorespiratory and anaesthetic effects of two continuous rate infusions of dexmedetomidine in alfaxalone anaesthetized dogs. Research Veterinary Science97: 1–8.

31. Carollo, D. S., Nossaman, B. D. and Ramadhyani, U. (2008) Dexmedetomidine: a review of clinical applications. Current Opinion in Anaesthesiology 21: 457–461.

32. Carpenter, R. E., Grimm, K. A., Tranquilli, W. J.y cols. (2005) Preliminary report on the use of Alfaxalone for anesthetic induction in goats. Abstract presented at the Veterinary Midwest Anesthesia and Analgesia Conference (VMAAC) April 2005 Indianapolis, IN, USA.

33. Caulkett, N. A., Cantwell, S. L. and Houston, D. M. (1998) A comparison of indirect blood pressure monitoring techniques in the anesthetized cat. Veterinary Surgery 27: 370–377.

34. Celotti, F., Negri-Cesi, P. and Poletti, A. (1997) Steroid metabolism in the mammalian brain: 5alpha-reduction and aromatization. Brain Research Bulletin 44: 365–375.

35. Child, K. J., Currie, J. P., Davis, B. y cols. (1971) The pharmacological properties in animals of CT 1341- a new steroid anaesthetic agent. British Journal of Anaesthesia 43: 2-13.

36. Child, K. J., Davis, B., Dodds, M. G. y cols. (1972) Anaesthetic, cardiovascular and respiratory effects of a new steroidal agent CT 1341: a

comparison with other intravenous anaesthetic drugs in the unrestrained cat. British Journal of Pharmacology 46: 189–200.

37. Clarke, R. S., Montgomery, S. J., Dundee, J. W. y cols. (1971) Clinical studies of induction agents. XXXIX: CT1341, a new steroid anaesthetic. British Journal of Anaesthesia. 43: 947-952.

38. Clarke, R., S., J., Dundee, J. W. and Garrett, R. T. (1975) Adverse reactions to intravenous anaesthetics: A survey of 100 reports. British Journal of Anaesthesia 47: 575-585.

39. Correa-Sales, C., Rabin, B. C. and Maze, M. (1992) A hypnotic response to dexmedetomidine, an α2 agonist, is mediated in the locus coerüleus in rats. Anesthesiology 76: 948–952

40. Cottrell, G. A., Lambert, J. J. and Peters, J. A. (1987) Modulation of GABAA receptor activity by alphaxalone. British Journal of Pharmacology 90: 491–500.

41. Coussement, W., Cauterer, V., Vandenberghe, J. et al. (1990) Toxicological profile of hydroxypropyl-B- cyclodextrine in laboratory animals. Fifth International Symposium Cyclodextrines. 522–524.

42. Da Cunha AF, Saile K, Beaufrère H y cols. (2014) Measuring level of agreement between values obtained by directly measured blood pressure and ultrasonic Doppler flow detector in cats. Journal of Veterinary Emergency and Critical Care 24: 272–278.

43. Daunt, D.A. and Steffey, E.P. (2002) Alpha-2 adrenergic agonists as analgesics in horses. The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice 18: 39–46.

44. Davis, B. and Pearce, D.R. (1972) An introduction to Althesin. Postgraduate Medical Journal 48: 2–7.

45. Devcic, A., Schmeling, W. T., Kampine, J. P. y cols. (1994) Oral Dexmedetomidine Preserves Baroreceptor Function and Decreases Anesthetic Requirements of Halothane-Anesthetized Dogs. Anesthesiology 81: 419–430.

46. Dobromylskj, P. (1996) Cardiovascular changes associated with anaesthesia induced by medetomidine combined with ketamine in cats. Journal of Small Animal Practice 37: 169–172.

47. Doenicke, A. (1974) Proceedings of the Fourth European Congress of Anesthesiology, Madrid. 107-113.

48. Doenicke, A., Roizen, M. F. and Nebauer, A. E. (1994) A Comparison of Two Formulations for Etomidate, 2 – Hydroxypropyl – β - cyclodextrin (HPCD) and Propylene Glycol. Anesthesia and Analgesia 79: 933–939.

49. Doze, V. A., Chen, B. X. and Maze, M. (1989) Dexmedetomidine produces a hypnotic-anaesthetic action in rats via activation of central α2 adrenoceptors. Anesthesiology 71:75–79.

50. Dundee, J.W. and Wyantg, W. (1974) Intravenous Anaesthesia. Churchill Livingstone, Edinburgh and London.

51. Dyson, D. H., Allen, D. G., Ingwersen, W. y cols. (1987) Effects of saffan on cardiopulmonary function in healthy cats. Canadian Journal of Veterinary Research 51: 236–239.

52. Dzikiti, T. B., Zeiler, G. E., Dzikiti, L. N.y cols.. (2014) The effects of midazolam and butorphanol, administered alone or combined, on the

dose and quality of anaesthetic induction with alfaxalone in goats. The Journal of the South African Veterinary Association 85: 1–8.

53. Estes, K. S., Brewster, M. E., Webb, A. I. y cols. (1990) A non-surfactant formulation for alfaxalone based on an amorphous cyclodextrin: Activity studies in rats and dogs. International Journal of Pharmaceutics 65: 101–107.

54. Evans, J. M., Aspinall, K.W. and Hendy, P. G. (1972) Clinical evaluation in cats of a new anaesthetic, CT 1341. Journal of Small Animal Practice 13: 479–486.

55. Evans, J. M. (1975) A steroid anaesthetic for cats. The New Zealand Veterinary Journal 23: 281–283.

56. Evans, J.M. and Keogh, J. A. M. (1977) Adverse reactions to intravenous anaesthetic induction agents. British Medical Journal 11: 735.

57. Ferré, P. J., Pasloske, K., Whittem, T.y cols. (2006) Plasma pharmacokinetics of alfaxalone in dogs after an intravenous bolus of Alfaxan - CD RTU. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 33: 229–236.

58. Fisher, M. M. (1975) Severe histamine mediated reactions to intravenous drugs used in anaesthesia. Anaesthia and Intensive Care 3: 180-197.

59. Furst, S. R. and Weinger, M. B. (1990) Dexmedetomidine, a Selective Alpha – 2 - Agonist, Does Not Potentiate the Cardiorespiratory Depression of Alfentanil in the Rat. Anesthesiology 72: 882–888.

60. Gil, A. G., Silvan, G., Villa, A. and Illera, J. C. (2012) Heart and respiratory rates and adrenal response to propofol or alfaxalone in rabbits. The Veterianary Record 170: 444.

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

62. Giral, M., Garcia-Olmo, D. C., Gomez-Juarez, M.y cols. (2014) Anaesthetic effects in the ferret of alfaxalone alone and in combination with medetomidine or tramadol: a pilot study. Laboratory Animals 48: 313–320.

63. Glen, J., B, Davies, G., E, Thomson, D., S. y cols. (1979) An animal model for the investigation of adverse responses to intravenous anaesthetic agents and their solvents. British Journal of Anaesthesia 51: 819-827.

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

65. Goodwin, W.A., Keates, H.L., Pasloske, K. y cols. (2011) The pharmacokinetics and pharmacodynamics of the injectable anaesthetic alfaxalone in the horse. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 38: 431–438.

66. Goodwin, W., Keates, H., Pasloske, K. y cols. (2012) Plasma pharmacokinetics and pharmacodynamics of alfaxalone in neonatal foals after an intravenous bolus of alfaxalone following premedication with butorphanol tartrate. Veterinary Anaesthesia adn Analgesia 39: 503–510.

67. Granados, M. M., Dominguez, J. M., Fernandez-Sarmiento, A. y cols. (2012) Anaesthetic and cardiorespiratory effects of a constant-rate infusion of alfaxalone in desflurane-anaesthetised sheep. The Veterinary Record 171: 125–125.

68. Granholm, M., McKusick, B. C., Westerholm, F.C. y cols. (2006) Evaluation of the clinical efficacy and safety of dexmedetomidine or medetomidine in cats and their reversal with atipamezole. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 33: 214–233.

69. Grint, N. J., Smith, H. E. and Senior, J. M. (2008) Clinical evaluation of alfaxalone in cyclodextrin for the induction of anaesthesia in rabbits. The Veterinary Record 163: 395–396.

70. Grubb, T. L., Greene, S. A. and Perez, T. E. (2013) Cardiovascular and respiratory effects, and quality of anesthesia produced by alfaxalone administered intramuscularly to cats sedated with dexmedetomidine and hydromorphone. Journal of Feline Medicine and Surgery 15: 858–865.

71. Gyermek, L. and Soyka, L. F. (1975) Steroid Anesthetics. Anesthesiology 42: 331–344.

72. Hall, L. W., Clarke, K. W. and Trim, C. M. (2001) Principles of sedation, analgesia and premedication. In: Veterinary Anaesthesia. 10th Edition. Eds L. Hall, K. Clarke and C. Trim. Saunders, London, UK: 75-112.

73. Hansen, L. L. and Bertelsen, M. F. (2013) Assessment of the effects of intramuscular administration of alfaxalone with and without medetomidine in Horsfield's tortoises (Agrionemys horsfieldii). Veterinary Anesthesia and Analgesia 40: 68-75.

74. Harrison, N. L. and Simmonds, M. A. (1984) Modulation of the GABA receptor complex by a steroid anesthetic. Brain Research 323: 287-292

75. Haskins, S. C., Peiffer, R.L. Jr and Stowe, C.M. (1975) A clinical comparison of CT1341, ketamine, and xylazine in cats. American Journal of Veterinary Research 36: 1537-1543.

76. Heit, M., Schnell, M., Whittem, T.y cols. (2004) Safety and efficacy of Alfaxan®-CD RTU administered once to cats subcutaneously at 10 mg/kg. Proceedings of the 22nd Annual American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) Forum, Minneapolis, MN, USA. p. 432.

77. Herbert, G. L., Bowlt, K. L., Ford-Fennah, V. y cols. (2012) Alfaxalone for total intravenous anaesthesia in dogs undergoing ovariohysterectomy: a comparison of premedication with acepromazine or dexmedetomidine. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 40: 124–133.

78. Hiroi, T., Kishimoto, W., Chow, T. y cols. (2001) Progesterone oxidation by cytochrome P450 2D isoforms in the brain. Endocrinology 142: 3901–3908.

79. Hogskilde, S., Wagner, J., Carl, P. y cols. (1987) A comparison with alphaxolone/alphadolone, propofol, thiopentone and midazolam in a rat model. Anaesthesia 42: 1045–1050.

80. Holly, J.M.P., Trafford, D.J.H., Sear, J.W. y cols. (1981) The in vivo metabolism of Althesin (alphaxalone + alphadolone acetate) in man. Journal of Pharmacy and Pharmacology 33: 427–433.

81. Horishita, T., Minami, K., Yanagihara, N. y cols.. (2002) Alphaxalone, a neurosteroid anesthetic, inhibits norepinephrine transporter function in cultured bovine adrenal medullary cells. Anesthesia and Analgesia 95: 1661–1666.

82. Horvath, G., Szikszay, M. and Benedek, G. (1992) Calcium Channels Are Involved in the Hypnotic - Anesthetic Action of Dexmedetomidine in Rats. Anesthesia and Analgesia 74: 884–888.

83. Hudson, R. (1974) Midazolam pharmacokinetics in patients undergoing abdominal aortic surgery. Anesthesia and Analgesia 79: 219-225.

84. Huynh, M., Poumeyrol, S., Pignon, C. y cols. (2015) Intramuscular administration of alfaxalone for sedation in rabbits. The Veterinary Record 176: 255–260.

85. Ishii H, Kohno T, Yamakura T, y cols.. (2008) Action of dexmedetomidine on the substantia gelatinosa neurons of the rat spinal cord. European Journal of Neuroscience 27: 3182–90.

86. Jansson, C. C., Marjamäki, A., Luomala, K. Y cols. (1994) Coupling of human α2-adrenoceptor subtypes to regulation of cAMP production in transfected S115 cells. European Journal of Pharmacology 266:165–174.

87. Jansson, C. C., Kukkonen, J. P., Nasman, J. y cols. (1998). Protean agonism at alpha 2A - adrenoceptors. Molecular Pharmacology 53: 963–968.

88. Johnston, G. A. (1996) GABAA receptor pharmacology. Pharmacology and Therapeutics 69: 173–198.

89. Jurox, NADA 141-342 Alfaxan® Intravenous injectable anesthetic for use in cats and dogs. Product Insert. 2012, USFDA

90. Jones, J., Payne, J. P. and Perry, I. R. (1972) Some clinical pharmacological effects of althesin (CT 1341). British Journal of Pharmacology 46: 553–554.

91. Jones, R. S. (1979) Injectable anaesthetic agents in the cat: A review. Journal of Small Animal Practice 20: 345.

92. Kallio, A., Scheinin, M., Koulu, M. y cols. (1989) Effects of dexmedetomidine, a selective α2 - adrenoceptor agonist, on hemodynamic control mechanisms. Clinical Pharmacology and Therapeutics 46: 33–42.

93. Kay, N., Sear, J.W., Uppington, J.y cols. (1986) Disposition of propofol in patients undergoing surgery. British Journal of Anaesthesia 58, 1075-1079

94. Keates, H. (2003) Induction of anaesthesia in pigs using a new alphaxalone formulation. The Veterinary Record 153: 627–628.

95. Keates, H. and Whittem, T. (2012) Effect of intravenous dose escalation with alfaxalone and propofol on occurrence of apnoea in the dog. Research Veterinary Science 93: 904–906.

96. Keates, H. L., Van Eps, A. W. and Pearson, M. R. B. (2012). Alfaxalone compared with ketamine for induction of anaesthesia in horses following xylazine and guaifenesin. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 39: 591–598.

97. Kischinovsky, M., Duse, A., Wang, T. y cols. (2013) Intramuscular administration of alfaxalone in red-eared sliders (Trachemys scripta elegans)--effects of dose and body temperature. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 40: 13–20.

98. Klöppel, H. and Leece, E. A. (2010) Comparison of ketamine and alfaxalone for induction and maintenance of anaesthesia in ponies undergoing castration. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 38: 37–43.

99. Klotz, U. (2009) Phramacokinetics and drug metabolism in the elderly. Drug Metabolism Reviews 41: 67-76.

100. Kuusela, E., Raekallio, M., Anttila, M. y cols. (2000) Clinical effects and pharmacokinetics of medetomidine and its enantiomers in dogs. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics 23: 15–20.

101. Kuusela, E., Vainio, O., Kaistinen, A. y cols. (2001) Sedative, analgesic, and cardiovascular effects of levomedetomidine alone and in combination with dexmedetomidine in dogs. American Journal of Veterinary Research 62: 616–621.

102. Lambert, J. J., Belelli, D., Hillvening, C. y cols. (1995) Neurosteroids and GABA(a) Receptor Function. Trends in Pharmacology Sciences 16: 295–303.

103. Lambert, J. J., Belelli, D., Peden, D. R. y cols. (2003). Neurosteroid modulation of $GABA_A$ receptors. Progress in Neurobiology 71: 67–80.

104. Lamont, L. A., Bulmer, B. J., Grimm, K. A. y cols. (2001). Cardiopulmonary evaluation of the use of medetomidine hydrochloride in cats. American Journal of Veterinary Research 62: 1745–1749.

105. Lan, N. C. and Gee, K. W. (1993) Neuroactive Steroid Actions at the GABAa Receptor. Hormones and Behavior 28: 537–544.

106. Le Bars, D., Menetrey, D., Conseiller, C. y cols. (1976) Steroid anaesthesia (Althesin-CT 1341) and dorsal horn cell activities in feline spinal cord. European Journal of Pharmacology 38: 165-173.

107. Leece, E. A., Girard, N. M. and Maddern, K. (2009). Alfaxalone in cyclodextrin for induction and maintenance of anaesthesia in ponies undergoing field castration. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 36: 480–484.

108. Lukas, G., Brindle, S.D. and Greengard, D. (1971) The route of absorption of intraperitoneally administered compounds. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 178: 562-564.

109. Majewska M. D., Harrison N. L., Schwartz R. D. y cols. (1986) Steroid hormone metabolites are barbiturate-like modulators of the GABA receptor. Science. 232: 1004-1007.

110. Maney, J. K., Shepard, M. K., Braun, C. y cols. (2013) A comparison of cardiopulmonary and anesthetic effects of an induction dose of alfaxalone or propofol in dogs. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 40: 237–244.

111. Marsh, M. K., McLeod, S. R., Hansen, A. y cols. (2009) Induction of anaesthesia in wild rabbits using a new alfaxalone formulation. The Veterinary Record 164: 122–123.

112. Martínez, F. and Murison, P. J. (2010) Induction of anaesthesia with alfaxalone or propofol before isoflurane maintenance in cats. The Veterinary Record 167: 85–89.

113. McSweeney, P. M., Martin, D. D., Ramsey, D. S.y cols. (2012). Clinical efficacy and safety of dexmedetomidine used as a preanesthetic prior to general anesthesia in cats. Journal of the American Veterinary Medical Association 240: 404–412.

114. Mehta, S. (1981) Adverse responses to intravenous anaesthetics. British Journal of Anaesthesia 53: 1005-1006.

115. Mendes GM, Selmi AL, Barbudo-Selmi GR y cols. (2003) Clinical use of dexmedetomidine as a premedicant in cats undergoing propofol – sevofluorane anaesthesia. Journal of Feline Medicine and Surgery 5: 265–270.

116. Middleton, D., J., Ilkiw, J. E. and Watson, A., D. (1982) Physiological effects of thiopentone, ketamine and CT 1341 in cats. Research in Veterinary Science 32: 157-162.

117. Michou, J. N., Leece, E. A. and Brearley, J. C. (2012). Comparison of pain on injection during induction of anaesthesia with alfaxalone and two formulations of propofol in dogs. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 39: 275–281.

118. Mizobe, T., Maghsoudi, K., Sitwala, K. Y cols. (1996) Antisense technology reveals the alpha-2A adrenoceptor to be the subtype mediating the hypnotic response to the highly selective agonist, dexmedetomidine, in the locus coeruleus of the rat. Journal of Clininical Investigation 98: 1076-1080.

119. Moens, Y. and Coppens, P. (2007) BSAVA Manual of Canine and Feline Anaesthesia and Analgesia (2nd edn). Seymour C, Duke-Novakovski T (BSAVA British Small Animal Veterinary Association), Gloucester, UK, pp 62–78.

120. Moll, X., Santos, L., García, F. y cols. (2013) The effects on cardio-respiratory and acid-base variables of a constant rate infusion of alfaxalone-HPCD in sheep. The Veterinary Journal 196: 209–212.

121. Monteiro, E. R., Campagnol, D. and Parrilha, L. R. (2009) Evaluation of cardiorespiratory effects of combinations of dexmedetomidine and atropine in cats. Journal of Feline Medicine and Surgery 11: 783–792.

122. Muir, W.W. and Lerche, P (2004). The cardiovascular and respiratory safety of Alfaxan-CD RTU when administered to dogs intravenously which have been premedicated with acepromazine, medetomidine, midazolam or

butorphanol. Jurox. Compendio: Alfaxalone 10 mg/mL Intravenous injectable anesthetic Cats and Dogs, 1–61.

123. Muir, W. W., Lerche, P., Wiese, A.J. And col. (2004). The cardiovascular and respiratory safety of Alfaxan-CD RTU when administered intravenously to dogs at 2, 6 and 20 mg/kg. Jurox. Compendium: Alfaxalone 10 mg/mL Intravenous injectable anesthetic Cats and Dogs, 1–61.

124. Muir, W. W., Lerche, P., Siclair., S.H. y cols. (2005). The cardiovascular and respiratory safety of Alfaxan-CD RTU when administered intravenously to cats as a single dose at 5, 15 and 50 mg/kg. Jurox. Compendium: Alfaxalone 10 mg/mL Intravenous injectable anesthetic Cats and Dogs, 1–61.

125. Muir, W. W. (2008) Anxiolytics, nonopioid sedative-analgesics and opioids analgesics. In: Equine Anesthesia, Monitoring and Emergency Therapy, 2nd Edition. Ed: W. W. Muir and J. A. E. Hubell. St Louis, Missouri: 185-209.

126. Muir W, Lerche P, Wiese A y cols. (2009) The cardiorespiratory and anesthetic effects of clinical and supraclinical doses of alfaxalone in cats. Vet Anaesthesia and Analgesia 36: 42–54.

127. Müller, B., W. and Brauns, V. (1985) Solubilization of drugs by modified cyclodextrins. Internatiol Journal of Pharmacy 26: 77-78.

128. Murrell, J. C. and Hellebrekers, L. J. (2005) Medetomidine and dexmedetomidine: a review of cardiovascular effects and antinociceptive properties in the dog. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 32: 117–127.

129. Murrell, J. C. (2007) Premedication and sedation. In: Seymour, C. and Duke-Novakovski, T. BSAVA Manual of Canine and Feline Anaesthesia

and Analgesia, 2nd Edition. Ed: British Small Animal Veterinary Association. Gloucester, UK: 120-132.

130. Nadeson, R. and Goodchild, C. S. (2000). Antinociceptive properties of neurosteroids II. Experiments with Saffan 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.

131. Navarrete-Calvo, R., Gomez-Villamandos, R. J., Morgaz, J. y cols. (2014). Cardiorespiratory, anaesthetic and recovery effects of morphine combined with medetomidine and alfaxalone in rabbits. The Veterinary Record 174: 95.

132. Ndawana, P. S., Dzikiti, B. T., Zeiler, G. y cols. (2014) Determination of the Minimum Infusion Rate (MIR) of alfaxalone required to prevent purposeful movement of the extremities in response to a standardised noxious stimulus in goats. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 42: 65–71.

133. Nguyen, D., Abdulrasool, I., Ward, D. y cols. (1992) Ventilatory Effects of Dexmedetomidine, Atipamezole, and Isoflurane in Dogs. Anesthesiology 76: 573–579.

134. Nicholas, T.E., Jones, M.E., Johnson, D.W. y cols. (1981) Metabolism of the steroid anaesthetic alphaxalone by the isolated perfused rat lung. Journal of Steroid Biochemistry 14: 45–51.

135. Nicoll, R. A. and Madison, D. V. (1982) General anesthetics hyperpolarize neurons in the vertebrate central nervous system. Science 217: 1055-1057.

136. Nishida, T., Nishimura, M., Kagawa, K. y cols. (2002) The effects of dexmedetomidine on the ventilatory response to hypercapnia in rabbits. Intensive Care Medicine 28: 969–975.

137. Norman, W.M., Court, M.H., Greenblatt, D.J. (1977) Age related changes in the PK disposition of diazepam in foals. . American Journal of Veterinary Research, 58: 878-880.

138. O'Hagan, B., Pasloske, K., McKinnon, C.y cols. (2012) Clinical evaluation of alfaxalone as an anaesthetic induction agent in cats less than 12 weeks of age. Australian Veterinary Journal 90: 395–401.

139. Okushima, S., Vettorato, E. and Corletto, F. (2014) Chronotropic effect of propofol or alfaxalone following fentanyl administration in healthy dogs. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 42: 88–92.

140. Olsson, A., Phalen, D. and Dart, C. (2013) Preliminary studies of alfaxalone for intravenous immobilization of juvenile captive estuarine crocodiles (Crocodylus porosus) and Australian freshwater crocodiles (Crocodylus johnstoni) at optimal and selected sub-optimal thermal zones. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 40: 494–502.

141. Patten, B. y cols. (1998) RD9604.03/01 The Safety of Alfaxalone-Cyclodextrin Complex in cats. Jurox in House.

142. Pasloske, K. and Whittem, T. (2004) JX9604.07-H004 A target animal safety study in cats after administration of Alfaxan® - CD RTU as single, repeated injections on days 0, 2, and 5 at dosages of 5, 15 or 25 mg/kg. On File at Jurox.

143. Pasloske, K., Gazzard, B., Perkins, N. y cols. (2005) A multi-centre clinical trial evaluating the efficacy and safety of Alfaxan - CD RTU

administered to dogs for induction and maintenance of anaesthesia. Proceedings of BSAVA Congress. Birmingham, UK, April 7th to 10th.

144. Pasloske, K. y cols. (2007) A multicentre clinical trial evaluating the efficacy and safety of Alfaxan® administered to cats for induction and maintenance of anaesthesia.in British Small Animal Veterinary Association Congress. Birmingham, UK.

145. Pasloske, K (2008). A Multi-Centre Clinical Trial Evaluating the Efficacy and Safety of Alfaxan-CD RTU Administered to Dogs for Induction of Anaesthesia Prior to Caesarean Section. Jurox. Compendium: Alfaxalone 10 mg/mL Intravenous injectable anesthetic Cats and Dogs, 1–61.

146. Pastorino, A. M., Favaretto, P. and Vallaperta, P. (1979) Alphaxalone distribution in rat tissues. Arzneimittelforschung. 29: 204–206.

147. Paul, S. M. and Purdy, R. H. (1992). Neuroactive steroids. FASEB Journal 6: 2311–2322.

148. Pearson, M., Best, P., Patten, B. y cols.. (2003) Alfaxalone in dogs; a safety study. Proceedings, World Congress of Veterinary Anesthesia, 17th-20th September. Knoxville, TN. 159.

149. Peden, C. J. and Prys-Roberts, C. (1992) Dexmedetomidine - A powerful new adjunct in anaesthesia? British Journal of Anaesthesia 68: 123–125.

150. Perrier, D. and Gibaldi, M (1974) Clearance and biological half-life as indices of intrinsic hepatic metabolism. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 191: 17-24.

151. Phillips, I. R. and Grist, S. M. (1975) Clinical use of CT1341 anaesthetic ("Saffan") in marmosets (Callithrix jacchus). Laboratory Animals 9: 57–60.

152. Pinelas, R., Alibhai, H. I., Mathis, A. y cols. (2013) Effects of different doses of dexmedetomidine on anaesthetic induction with alfaxalone - a clinical trial. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 41: 378–385.

153. Pitha, J. and Pitha, J. (1985) Amorphous water-soluble derivatives of cyclodextrins: Non-toxic dissolution enhancing excipients. Journal of Pharmacy Sciences 74: 987-990.

154. Prys-Roberts, C. and Sear, J. (1980) Steroid anaesthesia. British Journal of Anaesthesia 52: 363-365.

155. Psatha, E., Alibhai, H. I., Jimenez-Lozano, A. y cols. (2011) Clinical efficacy and cardiorespiratory effects of alfaxalone, or diazepam/fentanyl for induction of anaesthesia in dogs that are a poor anaesthetic risk. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 38: 24-36.

156. Pypendop, B. H. and Verstegen, J. P. (1998) Hemodynamic effects of medetomidine in the dog: A dose titration study. Veterinary Surgery 27: 612–622.

157. Pypendop, B. H. and Verstegen, J. P. (2001) Cardiovascular effects of romifidine in dogs. American Journal of Veterinary Research 62: 490–495.

158. Ramoo, S., Bradbury, L. A., Anderson, G. A. y cols. (2013) Sedation of hyperthyroid cats with subcutaneous administration of a combination of alfaxalone and butorphanol. Australian Veterinary Journal 91: 131–136.

159. Ribas T, Bublot I, Junot S y cols. (2014) Effects of intramuscular sedation with alfaxalone and butorphanol on echocardiographic measurements in healthy cats. Journal of Feline Medicine and Surgery (doi: 10.1177/1098612X14551187).

160. Rodríguez, J. M., Muñoz-Rascón, P., Navarrete-Calvo, R. y cols. (2012). Comparison of the cardiopulmonary parameters after induction of anaesthesia with alphaxalone or etomidate in dogs. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 39: 357–365.

161. Sabbe, M. B., Penning, J. P., Ozaki, G. T. y cols. (1994) Spinal and Systemic Action of the Alpha(2) Receptor Agonist Dexmedetomidine in Dogs - Antinociception and Carbon-Dioxide Response. Anesthesiology 80: 1057–1072.

162. Sano, H., Dot, M., Mimuro, S. y cols. (2010) Evaluation of the Hypnotic and Hemodynamic Effects of Dexmedetomidine on Propofol - Sedated Swine. Experimental Animals 59: 199–205.

163. Santos González, M., Bertrán de Lis, B. T. and Tendillo Cortijo, F. J. (2013) Effects of intramuscular alfaxalone alone or in combination with diazepam in swine. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 40: 181–193.

164. Savege, T. M., Foley, E. I., Coultas, R. J. y cols. (1971) CT1341: some effects in man. Anaesthesia. 26: 402.

165. Savege, T. M., Foley, E. I. and Simpson, B. R. (1973) Some cardiorespiratory effects of Cremophor EL in man. British Journal of Anaesthesia 45: 515–517.

166. Savola, J. M., Ruskoaho, H., Puurunen, J. y cols. (1986) Evidence for medetomidine as a selective and potent agonist of alpha2-adrenoceptors. Journal of Autonomic Pharmacology 5: 275-284.

167. Savola, J. M. and Virtanen, R. (1991). Central α 2-adrenoceptors are highly stereoselective for dexmedetomidine, the dextro enantiomer of medetomidine. European Journal of Pharmacology 195: 193–199.

168. Schnell, M., Weiss, C., Heit, M. y cols. (2004). Margin of safety of the anaesthetic alfaxan-CD RTU in dogs at 0, 1, 3 and 5x the intravenous dose of 2 mg/kg. Proceedings of the American College of the Veterinary Internal Medicine. Minneapolis, Minnesota, USA.

169. Schofield, C.N. (1980) Potentiation of inhibition by general anesthetics in neurons of the olfactory cortex in vitro. Pfluger's Archive: European Journal of Physiology 38: 249–255.

170. Schwarz, A., Kalchofner, K., Palm, J. y cols. (2014) Minimum infusion rate of alfaxalone for total intravenous anaesthesia after sedation with acepromazine or medetomidine in cats undergoing ovariohysterectomy. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 41: 480–490.

171. Sear, J.W. (1996) Steroid anesthetics: Old compounds, new drugs. Journal Clinical Anesthesia 8: 91–98.

172. Sear, J.W. and McGivan, J.D. (1981) Metabolism of alphaxalone in the rat: evidence for the limitation of the anaesthetic effect by the rate of degradation through the hepatic mixed function oxygenase system. British Journal of Anaesthesia 53: 417–424.

173. Segal, I. S., Vickery, R. G., Walton, J. K. y cols. (1988) Dexmedetomidine Diminishes Halothane Anesthetic Requirements in Rats

Through a Postsynaptic Alpha-2 Adrenergic-Receptor. Anesthesiology 69: 818–823.

174. Selmi, A. L., Mendes, G. M., Lins, B. T.y cols. (2003) Evaluation of the sedative and cardiorespiratory effects of dexmedetomidine, dexmedetomidine-butorphanol, and dexmedetomidine-ketamine in cats. Journal of the American Veteterinary Medical Association 222: 37–41.

175. Selye, H. (1941a). Acquired Adaptation to the Anesthetic Effect of Steroid Hormones. Journal of Immunology 41: 259–268.

176. Selye, H. (1941b) Studies concerning the anesthetic action of steroid hormones. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 73: 127–141.

177. Selye, H. (1941c) Anesthetic effect os steroid hormones. Experimental Biology and Medicine 46: 116-121.

178. Selye, H. (1942) Correlations between the chemical structure and the pharmacological actions of the steroids. Endocrinology 30: 437–453.

179. Slingsby, L. S., Murrell, J. C. and Taylor, P. M. (2010). Combination of dexmedetomidine with buprenorphine enhances the antinociceptive effect to a thermal stimulus in the cat compared with either agent alone. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 37: 162–170.

180. Stenberg, D., Salvén, P. and Miettinen, M. V. (1987) Sedative action of the alpha 2-agonist medetomidine in cats. Journal of Veterinary Pharmacologyand Therapeutics 10: 319-23.

181. Strachan, F. A., Mansel, J. C. and Clutton, R. E. (2008) A comparison of microbial growth in alfaxalone, propofol and thiopental. Journal of Small Animal Practice 49: 186–190.

182. Strunin, L., Strunin, J.M., Knights, K.M. y cols. (1977) Metabolism of 14C-labelled alphaxalone in man. British Journal of Anaesthesia 49: 609–614.

183. Suarez, M. A., Dzikiti, B. T., Stegmann, F. G. y cols. (2012). Comparison of alfaxalone and propofol administered as total intravenous anaesthesia for ovariohysterectomy in dogs. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 39: 236–244.

184. Swerdlow, M., Chakraborty, S. K. and Zahangir, M. A. (1971) A trial of CT1341. British Journal of Anaesthesia 43: 1075–1080.

185. Tamiya, J., Ide, R., Takahashi, M. y cols. (2014) Effects of dexmedetomidine on cardiorespiratory regulation in spontaneously breathing newborn rats. Pediatric Anesthesia 24: 1245–1251.

186. Tamura, J., Ishizuka, T., Fukui, S. y cols. (2015a) The pharmacological effects of the anesthetic alfaxalone after intramuscular administration to dogs. The Journal of Veterinary Medical Science / the Japanese Society of Veterinary Science, 77: 289–296.

187. Tamura, J., Ishizuka, T., Fukui, S. y cols. (2015b) Sedative effects of intramuscular alfaxalone administered to cats. Journal of Veterinary Medicine Science / the Japanese Society of Veterinary Science 77: 897–904.

188. Thomas, A. A., Leach, M. C. and Flecknell, P. A. (2012) An alternative method of endotracheal intubation of common marmosets (Callithrixjacchus). Laboratory Animals 46: 71–76.

189. Timmermans, P. B. M. W. M. and Van Zwieten, P. A. (1982) Alpha 2- adrenoceptors: classification, location, mechanisms and targets for drugs. Journal of Medicinal Chemistry 25: 1389-1401.

190. Tutunaru, A. C., Sonea, A., Drion, P. y cols. (2013). Anaesthetic induction with alfaxalone may produce hypoxemia in rabbits premedicated with fentanyl/droperidol. Veterinary Anaesthesiaand Analgesia 40: 657–659.

191. Vähä-Vahe, T. (1989) Clinical evaluation of medetomidine, a novel sedative and analgesic drug for dogs cats. Acta Veterinaria Scandinavica 30: 267-273.

192. Vainio, 0. (1989) Introduction to the clinical pharmacology of medetomidine. Acta Veterinaria Scandinavica 85: 85-88.

193. Verstegen, J., Fargetton, X. and Ectors, F. (1989) Medetomidine/ketamine anaesthesia in cats. Acta Veterinaria Scandinavica 85: 117–123.

194. Verstegen, J., Fargetton, X., Donnay, I.y cols. (1990) Comparison of the clinical utility of medetomidine/ketamine and xylazine/ketamine combinations for the ovariectomy of cats. The Veterinary Record 127: 424–426.

195. Verstegen, J., Fargetton, X., Donnay, I.y cols. (1991) An evaluation of medetomidine/ketamine and other drugs for anaesthesia in cats. The Veterinary Record 128: 32–35.

196. Vettorato, E. (2013) Prolonged intravenous infusion of alfaxalone in a cat. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 40: 551–552.

197. Vickery, R. G., Sheridan, B. C., Segal, I. S. y cols. (1988) Anesthetic and Hemodynamic-Effects of the Stereoisomers of Medetomidine, an Alpha 2-Adrenergic Agonist, in Halothane-Anesthetized Dogs. Anesthesia and Analgesia 67: 611–615.

198. Virtanen, R., Savola, J. M., Saano, V. y cols. (1988) Characterization of the selectivity, specificity and potency of medetomidine as an alpha2-adrenoceptor agonist. European Journal of Pharrnacolology 150: 9-14.

199. Visser, S. A. G., Smulders, C. J. G. M., Reijers, B. P. R. y cols. (2002) Mechanism-Based Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling of Concentration-Dependent Hysteresis and Biphasic Electroencephalogram Effects of Alphaxalone in Rats. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 302: 1158–1167.

200. Wagner, J.G. (1983) Farmacocinética clínica. Ed. Reverté. Barcelona.

201. Walsh, V. P., Gieseg, M., Singh, P. M. y cols. (2012) A comparison of two different ketamine and diazepam combinations with an alphaxalone and medetomidine combination for induction of anaesthesia in sheep. The New Zealand Veterinary Journal 60: 136–141.

202. Warne, L. N., Beths, T., Whittem, T. y cols. (2015) A review of the pharmacology and clinical application of alfaxalone in cats. The Veterinary Journal (doi: 10.1016/j.tvjl.2014.12.011)

203. Watkins, W. and Dye, D. (1980). Suspected anaphylactic reaction to Cremophor EL. British Medical Journal 280: 1353.

204. Watt, J. M. (1975) Anaphylactoid reactions after use of CT1341 (Althesin). British Medical Journal 3: 205-206

205. Whittem, T. and Pasloske, K. (2004) RD9604.03-H005 Eight day target animal safety study of intravenous Alfaxan® CD RTU in dogs administered every other day. Jurox Pty Limited

206. Whittem, T., Pasloske, K. S., Heit, M. C. y cols. (2008) The pharmacokinetics and pharmacodynamics of alfaxalone in cats after single and multiple intravenous administration of Alfaxan at clinical and supraclinical doses. Journal of Veterinary Pharmacolgy and Therapeutics 31: 571–579.

207. Wiese, A. and Muir, W. (2007) Anaesthetic and cardiopulmonary effects of intramuscular morphine, medetomidine and ketamine administered to telemetered cats. Journal of Feline Medicine and Surgery 9: 150–156.

208. Winter, L., Nadeson, R., Tucker, A.P. y cols. (2003) Antinociceptive properties of neurosteroids: A comparison of alphadolone and alphaxalone in potentiation of opioid antinociception. Anesthesia and Analgesia 97: 798–805.

209. Wirth, W. and Hoffmeister, F. (1965) Pharmakologische Untersuchungen mit Propanidid: in Die intravenose KuTtnarkose ndt dent neven Phenoxyessigs Smedero at Propanidid (EpontoT) (eds. K. Horatz, R. Frey and M. Zindkr) p. 17. Heidelberg: Springer-Verlag.

210. Young, L. E., Brearley, J. C., Richards, D. L. S.y cols. (1990) Medetomidine as a premedicant in dogs and its reversal by atipamezole. Journal of Small Animal Practice 31: 554–559.

211. Zaki, S., Ticehurst, K. E. and Miyaki, Y. (2009) Clinical evaluation of Alfaxan®-CD as an intravenous anaesthetic in young cats. Australian Veterinary Journal 3: 82–87.

212. Zhang, X., Zhao, X. and Wang, Y. (2015) Dexmedetomidine: a review of applications for cardiac surgery during perioperative period. Journal of Anesthesia 29: 102–111.

213. Zoran, D., Riedesel, D. and Dyer, D.E. (1993) Pharmacokinetics of propofol in mixed-breed dogs and greyhounds. American Journal of Veterinary Research 54: 755-760.

214. Zornow, M. H. (1991) Ventilatory, Hemodynamic and Sedative Effects of the Alpha-2 Adrenergic Agonist, Dexmedetomidine. Neuropharmacology 30: 1065–1071.