

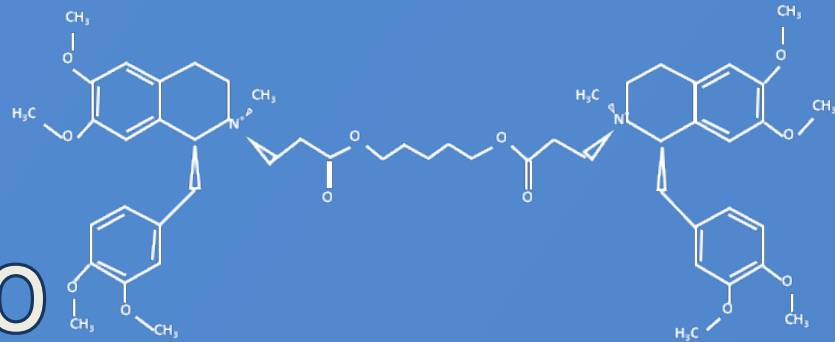


Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



ESTUDIO FARMACOCINÉTICO Y FARMACODINÁMICO TRAS LA ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE CISATRACURIO EN LA ESPECIE PORCINA



FACULTAT DE VETERINÀRIA

Departament de Medicina i Cirurgia Animal

Directores:

Dra. Ana María Andaluz Martínez

Dr. Félix Ángel García Arnas

UAB

Universitat Autònoma de Barcelona

2017



Universitat Autònoma de Barcelona



FACULTAT DE VETERINÀRIA

DEPARTAMENT DE MEDICINA I CIRURGIA ANIMALS

PROGRAMA DE DOCTORAT EN MEDICINA I SANITAT ANIMALS

ESTUDIO FARMACOCINÉTICO Y FARMACODINÁMICO TRAS LA ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE CISATRACURIO EN LA ESPECIE PORCINA.

**Memoria presentada por Adrià Aguilar Catalan
para optar al grado de Doctor en Veterinaria**

Bellaterra, 9 de Enero de 2017

Directores de tesis

Ana María Andaluz Martínez y Félix Ángel García Arnas

Ana María Andaluz Martínez, Profesora Agregada Interina del Departament de Medicina i Cirurgia Animals de la Facultat de Veterinària de la Universitat Autònoma de Barcelona.

Félix Ángel García Arnas, Catedrático del Departament de Medicina i Cirurgia Animals de la Facultat de Veterinària de la Universitat Autònoma de Barcelona.

CERTIFICAN:

Que la memoria titulada “ESTUDIO FARMACOCINÉTICO Y FARMACODINÁMICO TRAS LA ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE CISATRACURIO EN LA ESPECIE PORCINA” presentada por **Adrià Aguilar Catalan** para optar al grado de Doctor, ha sido realizada bajo su dirección y, considerándola finalizada, autoriza su presentación para que ésta sea juzgada por el tribunal correspondiente.

Y para que así conste, firmamos el presente certificado.

Bellaterra, 9 de Enero de 2017

Ana María Andaluz Martínez

Félix Ángel García Arnas

Travessera dels turons, Edifici V-Campus UAB
08193 Bellaterra (Cerdanyola del Vallès) / Barcelona, Espanya
Telf: + 34 93 581 10 91 – Fax: +34 93 581 20 06
d.med.cirurgia.animal@uab.es www.uab.es

“Lo que sabemos es una gota de agua;
lo que ignoramos es el océano”

- Isaac Newton -

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más sincera gratitud a todas las personas que mediante su amistad, apoyo y comprensión han permitido llevar a cabo este trabajo, ya que sin ellos hubiese sido mucho más difícil:

A la Doctora Anna Andaluz, directora de la presente tesis, por su inconmensurable ayuda y soporte, así como su confianza y paciencia a lo largo de estos años. Sin su apoyo no hubiese sido posible la redacción de esta tesis.

Al Doctor Félix García, co-director de la tesis, por su disposición y ayuda en todo momento para la realización de los estudios y la redacción del trabajo.

A mis compañeros y amigos del Departament de Medicina i Cirurgia Animals, sobretodo al Doctor Xavi Moll, Rosa Ferrer y Anna Morist, que de una forma u otra han permitido llevar este trabajo hacia delante con su colaboración y sus ánimos.

A los compañeros y amigos de la Fundació Hospital Clínic Veterinari, que me han ayudado y apoyado durante estos años.

A los estudiantes que han colaborado de forma desinteresada en la fase experimental del proyecto ya que sin su ayuda no hubiese sido posible. En especial, quería agradecer a Guillem Riera y Balma Barreda su incalculable ayuda, soporte y colaboración, así como por su gran amistad.

Al Doctor Carles Cristòfol por todos sus consejos, asistencia y paciencia durante la realización de los estudios farmacocinéticos.

A José Ríos por su ayuda y colaboración durante el análisis estadístico y por sus consejos.

Al servicio de Granjes i Camps Experimentals por su disposición y colaboración en todo momento con los animales.

A mis grandes amigos Anna Herrera, Anna Sunyol, Alicia Rami, Aleix Giménez y Tania Torres por su apoyo, consejo y por su incomparable amistad. Sin olvidar a Kati Rappe y Natalia Coyo, también embarcadas en la aventura del doctorado, por todos los momentos de ayuda y desahogo.

A mi padre, Diego, y mi madre, Charo, junto con mi hermana Carla, por los ánimos, el cariño y comprensión durante todos estos años y la inagotable paciencia que han tenido durante todo el tiempo.

A mi familia, por su apoyo, ánimos y cariño.

A la Generalitat de Catalunya, por la beca recibida, que me permitió iniciar este camino y realizar este trabajo que de otra forma no hubiese sido posible.

A todos aquellos que de una forma u otra han permitido la realización de este trabajo.

A todos ellos, muchas gracias.

ABREVIACIONES

ACT: Acetilcolina

ACTE: Acetilcolinesterasa

AMG: Aceleromiografía

AUC: Área bajo la curva

β : Ratio de eliminación

BNM: Bloqueantes neuromusculares

CIS: Cisatracurio

Cl: Aclaramiento

DBS: Estimulación de doble ráfaga

ED₉₅: Dosis efectiva 95

EMG: Electromiografía

FC: Frecuencia cardíaca

HPLC: Cromatografía Líquida de Alta Eficacia

LC: Límite de cuantificación

LD: Límite de detección

MMG: Mecanomiografía

MRT: Tiempo de residencia medio

PAD: Presión arterial diastólica

PAM: Presión arterial media

PAS: Presión arterial sistólica

PTC: Conteo post-tetánico

SCC: Succinilcolina

$t_{1/2\beta}$: Semivida de eliminación

T1: Primera respuesta tren de cuatro

T2: Segunda respuesta tren de cuatro

T3: Tercera respuesta tren de cuatro

T4: Cuarta respuesta tren de cuatro

TOF: Tren de cuatro

TOFR: TOF ratio

Vd: Volumen de distribución

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	15
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	19
2.1. La contracción muscular	21
2.1.1. Bases de la contracción muscular	21
2.1.2. La acetilcolina	21
Síntesis de la acetilcolina	22
Almacenamiento de la acetilcolina	22
Liberación de la acetilcolina	23
Destino de la acetilcolina	23
2.1.3. La acetilcolinesterasa	24
2.1.4. El receptor nicotínico de la unión neuromuscular	24
El receptor nicotínico presináptico	25
El receptor nicotínico postsináptico	25
2.1.5. La unión neuromuscular	26
Anatomía de la unión neuromuscular	26
Factor de seguridad	27
El potencial de acción y la contracción muscular	27
2.2. Los bloqueantes neuromusculares	28
2.2.1. Historia de los bloqueantes neuromusculares	28
2.2.2. Farmacocinética de los bloqueantes neuromusculares	30
2.2.3. Aspectos importantes de los bloqueantes neuromusculares	31
Parámetros farmacodinámicos	31
Precauciones con el uso de los bloqueantes neuromusculares	31
Relación entre potencia y dosis	22
2.2.4. Tipos de bloqueantes neuromusculares	22
Bloqueantes neuromusculares despolarizantes	22
Bloqueantes neuromusculares no despolarizantes	35
2.2.5. Características ideales de un bloqueante neuromuscular	40
2.2.6. Factores que afectan al bloqueo neuromuscular	41
2.2.7. Monitorización del bloqueo neuromuscular	45
Normativa durante la monitorización neuromuscular	46

Patrones de estimulación	48
Monitorización de la respuesta a la estimulación neuromuscular	49
Potenciación y estabilización de la señal	52
Normalización	53
2.2.8. Bloqueo neuromuscular residual	54
2.2.9. Reversión del bloqueo neuromuscular	55
2.2.10. Bloqueantes neuromusculares en medicina veterinaria	56
2.3. Cisatracurio	56
2.3.1. Estructura química	56
2.3.2. Estudios farmacocinéticos y farmacodinámicos en medicina humana	57
Farmacodinamia	57
Farmacocinética	59
2.3.3. Estudios farmacocinéticos y farmacodinámicos en medicina veterinaria	60
Farmacodinamia	60
Farmacocinética	61
3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	63
3.1. Elección de la especie	65
3.2. Objetivos	66
4. ESTUDIOS	67
4.1. Estudio piloto para testar la dosis intravenosa de cisatracurio	69
4.1.1. Determinación de la dosis de cisatracurio en bolo único	69
4.1.2. Determinación de la dosis de cisatracurio en infusión continua	70
4.2. Estudio farmacocinético tras la administración intravenosa de 1 mg/kg de cisatracurio en la especie porcina	71
4.2.1. Materiales y métodos	71
4.2.2. Resultados	73
4.2.3. Discusión	75
4.3. Estudio farmacodinámico tras la administración intravenosa de 1 mg/kg de cisatracurio en la especie porcina	80
4.3.1. Materiales y métodos	80

4.3.2. Resultados	83
4.3.3. Discusión	85
4.4. Estudio farmacocinético tras la administración intravenosa de 1 mg/kg seguida por la infusión continua de 1,2 mg/kg/h de cisatracurio en la especie porcina	92
4.4.1. Materiales y métodos	92
4.4.2. Resultados	93
4.4.3. Discusión	94
4.5. Estudio farmacodinámico tras la administración intravenosa de 1 mg/kg seguida por la infusión continua de 1,2 mg/kg/h de cisatracurio en la especie porcina	98
4.5.1. Materiales y métodos	98
4.5.2. Resultados	99
4.5.3. Discusión	101
5. CONCLUSIONES	105
6. BIBLIOGRAFÍA	109

1. INTRODUCCIÓN

La anestesia veterinaria ha evolucionado mucho y de forma muy rápida a lo largo de los siglos XX y XXI gracias a la aparición de nuevos fármacos, nuevas técnicas de monitorización y la comprensión de la fisiología y anatomía de las distintas especies animales. La anestesia general debe proporcionar analgesia, inconsciencia, amnesia, relajación muscular y supresión de reflejos motores y autónomos. Antiguamente, estos efectos se conseguían mediante el uso de altas dosis de un solo fármaco. Actualmente, el concepto de anestesia balanceada implica el uso de varios fármacos a dosis adecuadas para alcanzar los objetivos mencionados provocando los mínimos efectos adversos (Tranquilli & Grimm, 2015).

El empleo de bloqueantes neuromusculares en medicina humana, empezó durante los años 30, aunque no se emplearon de forma extensa hasta mediados de los años 40. Su utilización en anestesia veterinaria se remonta a mediados del siglo XX (Pickett, 1951). Durante sus inicios, la comunidad médica se opuso a su utilización debido a la parálisis respiratoria que producían, basándose en el dicho "Si respira, hay esperanza" (Clarke et al., 2014). Actualmente, su empleo está mucho más extendido ya que cubre una parte de los conceptos de la anestesia general, la relajación muscular y la ausencia de reflejos. A su

vez, la facilitación de la práctica de cirugías como las traumatológicas o oftalmológicas, así como la mejora del acceso a cirugías abdominales o el control sobre cirugías torácicas han colaborado en su desarrollo y extensión (Ilkiw, 1992).

Los bloqueantes neuromusculares actúan como antagonistas competitivos de los receptores nicotínicos en la unión neuromuscular, evitando la unión de la acetilcolina y por lo tanto impidiendo el potencial de acción y la contracción muscular. A su vez, también pueden actuar sobre los receptores nicotínicos o muscarínicos en otros sistemas, dónde aparecen los distintos efectos adversos relacionados con estos fármacos (Staffieri et al., 2011). El conocimiento del comportamiento y los efectos adversos de los distintos fármacos que comprenden este grupo es imprescindible para un correcto uso de los mismos. Existe una gran variedad de bloqueantes neuromusculares con diferencias en la duración de acción y potencia, así como vías de metabolismo y efectos adversos. Actualmente se buscan fármacos con un inicio de acción muy rápido, de duración corta, con metabolismo no dependiente de órganos y que permitan la realización de infusiones continuas para poder mantener su efecto el tiempo deseado (Finkel et al., 2004). Por el momento, no existe ningún fármaco que cumpla

de forma completa con todas las características descritas.

Para un correcto estudio de los bloqueantes neuromusculares y sus efectos se debe llevar a cabo una monitorización correcta del grado de parálisis muscular y de sus efectos. Es por eso que la monitorización del bloqueo neuromuscular de forma objetiva, está cogiendo impulso en los últimos años mediante el uso de aparataje específico. Cuando se monitoriza el grado de parálisis muscular de forma subjetiva, existe el riesgo de despertar a los pacientes de la anestesia general manteniendo un cierto grado de bloqueo neuromuscular (Ansermino et al., 1996; Claudius & Viby-Mogensen, 2008). Cuando su monitorización se basa en métodos objetivos como la aceleromiografía, la posibilidad de complicaciones postquirúrgicas debidas a la curarización residual o parálisis muscular residual se reduce (Martin-Flores et al., 2008).

Actualmente, la especie porcina es una de las principales especies animales usadas en investigación biomédica; como modelo quirúrgico para medicina humana así como de modelo farmacológico para su posterior uso en humanos. El cerdo es, a día de hoy, una de las especies que mejor refleja el comportamiento, los efectos y su duración de acción de los

bloqueantes neuromusculares en medicina humana (Muir et al., 1989; Schopfer et al., 1989). Así pues, el estudio de los bloqueantes neuromusculares en la especie porcina tiene un doble uso, el conocimiento de la farmacocinética y la farmacodinámica de estos fármacos en el cerdo y su correcto empleo, y, a su vez, la posibilidad de extrapolar estos resultados a medicina humana para conocer de antemano el tipo de fármaco que administraremos y predecir sus efectos.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. LA CONTRACCIÓN MUSCULAR

2.1.1. BASES DE LA CONTRACCIÓN MUSCULAR

El fenómeno de la contracción muscular se produce en la unión neuromuscular (Figura 1). Ésta consta de una terminación nerviosa proveniente de un nervio motor que desciende directamente de la médula espinal e inerva una fibra muscular. Cuando el estímulo nervioso llega a la terminación, se desencadena la liberación de acetilcolina (ACT) almacenada hacia el espacio sináptico. La ACT se unirá a los receptores nicotínicos presentes en la célula

muscular contigua, activándolos. La activación de estos receptores inicia la entrada de iones positivos a la fibra muscular. Esta entrada de iones produce un cambio en el potencial de membrana en la célula que desencadenará un potencial de acción. La entrada de iones positivos activa los canales iónicos controlados por voltaje adyacentes, propagando el potencial de acción y permitiendo la posterior contracción muscular (Bowman, 1980; Hall, 2006).

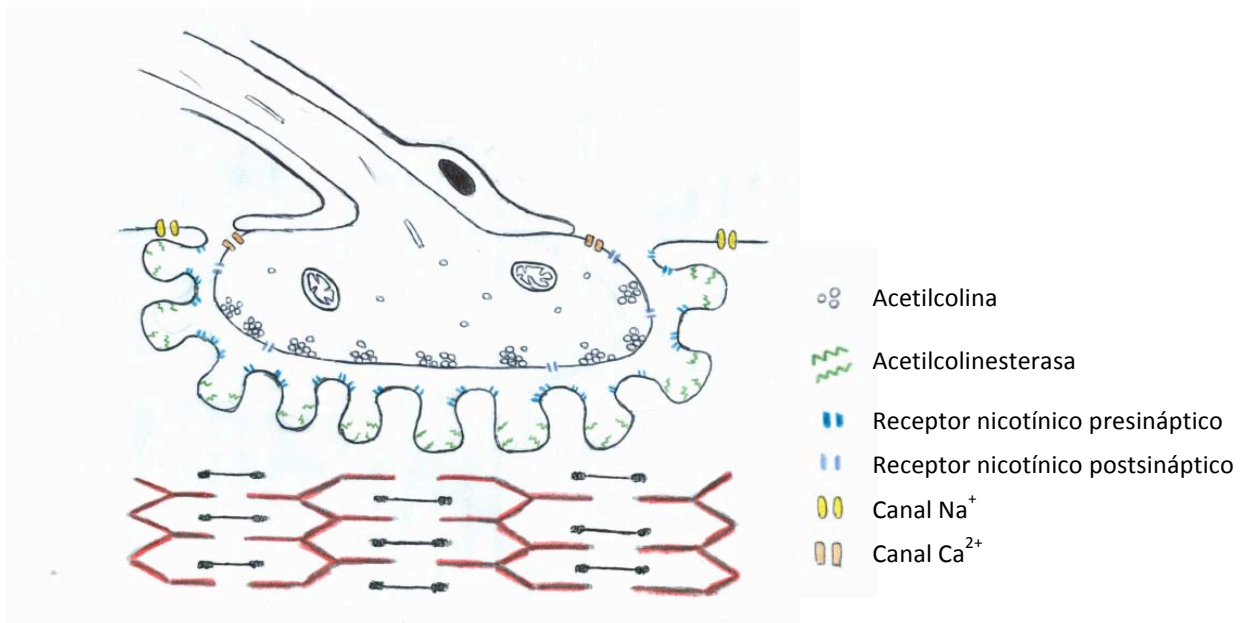


Figura 1. Estructura de la unión neuromuscular

2.1.2. LA ACETILCOLINA

SÍNTESIS DE LA ACETILCOLINA

La acetilcolina (Figura 2) se sintetiza en el citoplasma de las neuronas a partir de una molécula de colina y otra de acetilcoenzima A mediante la acción de la enzima colinoacetil transferasa (Cookson & Paton, 1969; Bowman, 1980; Van Kempen et al., 1994; Usdin et al., 1995; Wessler et al., 1999).

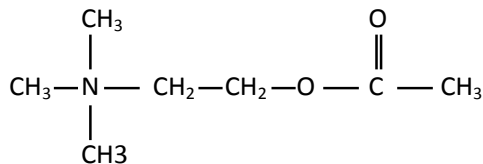


Figura 2. Estructura química de la acetilcolina

Las moléculas de colina pueden provenir de la síntesis hepática (Bremer & Greenberg, 1961), del metabolismo de la fosfatidilcolina que se encuentra en la membrana plasmática de las células (Wessler et al., 1999) y de la hidrólisis de la ACT por la acetilcolinesterasa (ACTE) en el espacio intersináptico (Potter, 1970). La mayor parte de la colina, entre un 50 – 80%, proviene de este último origen (Bowman, 1980). La acetilcoenzima A se obtiene a partir del metabolismo de la glucosa a piruvato en las mitocondrias y juega un papel muy importante en muchas rutas metabólicas (Wessler et al., 1999).

ALMACENAMIENTO DE LA ACETILCOLINA

En el terminal nervioso, las moléculas de ACT pueden encontrarse de tres modos distintos (Marchbanks, 1968; Potter, 1970).

La gran mayoría de la ACT se encuentra en el interior de vesículas presinápticas. Estas vesículas presinápticas se forman en el aparato de Golgi, en el cuerpo neuronal, y se transportan a través del axonema hasta las terminaciones nerviosas periféricas. Cada una de estas vesículas puede llegar a contener unas 10000 - 15000 moléculas de ACT (Bowman, 1980; Hall, 2006). Una vez allí, se mantendrán hasta su uso para iniciar la contracción muscular. A su vez, la ACT se puede encontrar asociada a membranas intracelulares y de forma libre en el citoplasma, la cual se encuentra a concentraciones de entre 0,4 – 3 mM (Marchbanks, 1968; Whittaker, 1972).

Un 80% de la ACT es directamente liberable (*releasable store*) durante un impulso nervioso y se cree que es la que se almacena en vesículas. El 20% restante no es liberable (*stationary store*) y se piensa que es la que se encuentra libre en el citoplasma (Bowman, 1980).

LIBERACIÓN DE LA ACETILCOLINA

Una vez almacenada, la ACT puede ser liberada de las terminaciones presinápticas de tres modos distintos:

1. En condiciones de reposo, la ACT libre puede difundir, en pequeñas cantidades, al espacio intersináptico sin producir potenciales de acción (González-García et al., 2008).

2. A su vez, en condiciones de reposo, hay una liberación espontánea y continuada de vesículas con acetilcolina, que origina potenciales miniatura o MEPP (*Miniature End-Plate Potentials*), responsables del mantenimiento del tono muscular (Bowman, 1980; Martyn et al., 2009).

3. Tras la aparición de un potencial de acción, la terminación colinérgica se despolariza. Esto produce la apertura de los canales de Ca^{2+} activados por voltaje, permitiendo la entrada de este ión a la célula nerviosa (Cooke et al., 1973; Llinás & Nicholson, 1975). Esta entrada de Ca^{2+} provoca la fusión de las vesículas presinápticas a la membrana de la terminal nerviosa y la exocitosis de la ACT al espacio intersináptico (Bowman, 1980) que acabará produciendo una contracción muscular.

DESTINO DE LA ACETILCOLINA

Una vez liberada en el espacio intersináptico, la molécula de ACT interactuará con su receptor para

producir un potencial de acción y acabar generando la contracción muscular (Quinn, 1987). La interacción acetilcolina – receptor se produce con la atracción del grupo amonio cuaternario de carga positiva presente en la ACT con las cargas negativas del receptor. La ACT que no llega a su receptor, o la que deja de hacer su acción, es hidrolizada por la ACTE presente en la hendidura sináptica (Wessler et al., 1999). Se cree que aproximadamente un 50% de la ACT liberada es metabolizada antes de llegar al receptor (Martyn et al., 2009). Finalmente, una parte de la ACT liberada difunde fuera del espacio sináptico y acabará siendo hidrolizada por la butirilcolinesterasa presente en el plasma (Hall, 2006; González-García et al., 2008).

El número de vesículas presinápticas disponibles es suficiente para permitir la transmisión de unos miles de impulsos. En un estado de inactividad, la síntesis y la degradación de la ACT están balanceadas (Potter, 1970). Para una función continuada de la célula muscular, se deben volver a formar rápidamente nuevas vesículas para almacenar ACT, por eso la velocidad de recaptación de la colina para formar ACT se ve aumentada durante la estimulación nerviosa (Potter, 1970). En el plazo de algunos segundos después de cada potencial, en la terminación nerviosa aparecen

hendiduras revestidas producidas por proteínas contráctiles llamadas clatrininas (Kirchhausen, 2002). Estas proteínas finalmente se contraen para formar nuevas vesículas e iniciar un nuevo ciclo (Hall, 2006).

2.1.3. LA ACETILCOLINESTERASA

La ACTE es la enzima específica para la degradación de la ACT (Quinn, 1987; Wessler et al., 1999). Se trata de una enzima que se encuentra ligada a las membranas y se proyecta hacia la sinapsis (Quinn, 1987). El centro activo de la ACTE se compone de un lugar aniónico y un lugar esteárico. El lugar aniónico, atrae a la ACT por su N⁺ cuaternario, formando un enlace iónico. Esto permite que el lugar esteárico de la ACTE separe el grupo acetilo de la ACT, liberando la colina. Posteriormente, el complejo enzima – acetilo se hidroliza, y la enzima activa se recupera (Bowman, 1980).

2.1.4. EL RECEPTOR NICOTÍNICO DE LA UNIÓN NEUROMUSCULAR

Los receptores nicotínicos son el prototipo de canal iónico activado por un ligando (Figura 3). La activación de estos receptores provoca la apertura del canal iónico y el aumento de la permeabilidad de éste (Raftery et al., 1980). Este receptor está formado por cinco subunidades glucoproteicas de 40 - 65 kD (unos 275 kD en total) que delimitan un canal central. Existen varios tipos de receptores nicotínicos en la unión neuromuscular, dependiendo de su localización se pueden dividir en receptores nicotínicos presinápticos y postsinápticos (Bowman, 1980).

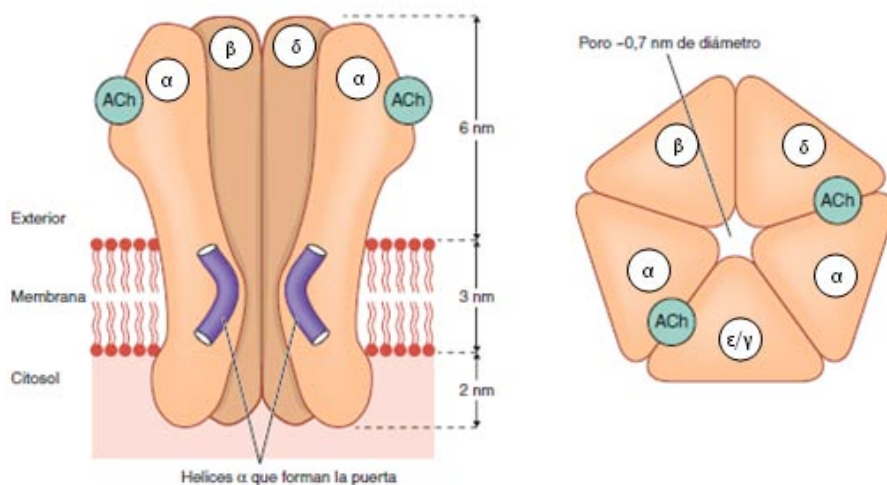


Figura 3. Estructura del receptor nicotínico postsináptico. Rang et al. (2008)

EL RECEPTOR NICOTÍNICO PRESINÁPTICO

Son los receptores que modulan la liberación de ACT. Son receptores pentaméricos compuestos de tres unidades α y dos unidades β (α_3, β_2) (Martyn et al., 2009). Son activados por la ACT y funcionan como sistema de retroalimentación positiva para asegurar la disponibilidad de esta molécula, aumentando su recaptación y disponibilidad. Por lo tanto, los receptores nicotínicos presinápticos están implicados en la movilización de la ACT, pero no en su liberación directamente (Bowman et al., 1990). Aún así, existe poca información acerca de estos receptores, de su localización exacta, los sitios de unión del agonista o de su interacción con la ACT (Bhatt et al., 2006).

EL RECEPTOR NICOTÍNICO POSTSINÁPTICO

Existen tres tipos de receptores nicotínicos postsinápticos.

1. El receptor nicotínico que se encuentra en la zona de unión o "*Junctional receptors*". Éste es el responsable de iniciar el potencial de acción en la célula muscular, llamado potencial de placa terminal. Estos receptores se encuentran en las placas motoras de los mamíferos adultos (Standaert, 1987; Yost & Winegar, 1997).

Este receptor está formado por dos unidades α y una β , δ y ϵ ($\alpha_2\beta\delta\epsilon$) (Jaramillo & Schuetze, 1988; Kopta & Steinbach, 1994; Yost & Winegar, 1997; Martyn et al., 2009). El lugar de unión de la ACT a este receptor se encuentra en las interfases α - ϵ y α - δ (Yost & Winegar, 1997).

2. Existe otro tipo de receptores postsinápticos o "*Extrajunctional receptors*". Estos receptores no se encuentran en un amplio número en los mamíferos adultos aunque son importantes ya que se sintetizan en la musculatura que recibe poca estimulación nerviosa (Standaert, 1987; Yost & Winegar, 1997). Su número puede aumentar en lesiones de denervación o lesiones de médula espinal (Standaert, 1987). A su vez, también están presentes en los neonatos y pacientes pediátricos aunque se desconoce hasta que edad (Martyn et al., 2009). En rata, estos receptores se expresan hasta las dos semanas de vida, momento en el cual son reemplazados por los receptores nicotínicos adultos (Jaramillo & Schuetze, 1988; Yost & Winegar, 1997). Su aparición se produce de forma rápida y su vida es menor que la de los receptores nicotínicos adultos (Pumplin & Fambrough, 1982). Su distribución no se centra solo en la placa motora, sino a lo largo de la superficie de la célula muscular (Standaert, 1987).

Estos receptores tienen una conformación ligeramente diferente, y su estructura se basa en dos unidades α y una β , γ y δ ($\alpha_2\beta\delta\gamma$) (Jaramillo & Schuetze, 1988; Kopta & Steinbach, 1994; Yost & Winegar, 1997). Su configuración hace que sean receptores de baja conductancia y un tiempo de apertura del canal más largo en comparación con los receptores nicotínicos adultos (Jaramillo & Schuetze, 1988; Kopta & Steinbach, 1994; Yost & Winegar, 1997). Debido a la configuración del receptor, estos son más resistentes a los bloqueantes neuromusculares no despolarizantes que los adultos (Martyn et al., 2009). Aunque Yost y Winegar (1997), describieron una afectación de ambos receptores por igual frente a los bloqueantes neuromusculares no despolarizantes como la d-tubocuramina.

La principal función de ambos receptores nicotínicos es la de permitir que grandes cantidades de iones sodio entren dentro de la fibra muscular, generando el potencial de la placa terminal, que inicia un potencial que se propaga por la fibra muscular y que, en última instancia, produce la contracción muscular (Cookson & Paton, 1969; Standaert, 1987).

3. Existe aún otro tipo de receptor no asociado al terminal nervioso formado por 5 unidades α , llamado

receptor $\alpha 7$ (Fischer et al., 1999). Este receptor se expresa también durante el desarrollo y en células musculares denervadas (Fischer et al., 1999; Martyn et al., 2009). Se ha observado que su función se centra en la actividad génica y la modulación de enzimas intracelulares para un correcto funcionamiento muscular (Fischer et al., 1999).

La unión de la ACT con los receptores nicotínicos es competitiva y reversible. Para que el canal se abra, es necesaria la unión de dos moléculas de acetilcolina (Standaert, 1987). En cambio, solo es necesaria la unión de un fármaco antagonista para bloquear el canal, impidiendo que dos moléculas de acetilcolina se puedan unir al receptor, y evitando así su correcto funcionamiento (Standaert, 1987).

2.1.5. LA UNIÓN NEUROMUSCULAR

ANATOMÍA DE LA UNIÓN NEUROMUSCULAR

La unión neuromuscular se puede dividir en tres zonas bien diferenciadas. La primera zona sería el terminal nervioso presináptico o botón sináptico. Ésta es la parte terminal especializada del axón proveniente de una neurona motora. Estas neuronas discurren sin interrupción desde el cuerno ventral de la médula espinal. Cuando llegan al músculo, se dividen en varias ramas, que contactan con

multitud de células musculares (Martyn et al., 2009).

La zona contigua a ésta sería el espacio o hendidura sináptica. Es un espacio de entre 20 y 30 nm de anchura, donde se libera la acetilcolina a partir de las vesículas sinápticas (Hall, 2006).

Finalmente, la placa terminal es el área especializada del extremo muscular y contiene la membrana postsináptica de la célula muscular esquelética. En esta zona, la superficie muscular está sumamente corrugada con múltiples invaginaciones primarias y secundarias, aumentando mucho la superficie muscular (Martyn et al., 2009). Los receptores nicotínicos se distribuyen en los codos de las invaginaciones, mientras que las zonas más profundas contienen las moléculas de ACTE y algunos receptores de sodio (Martyn et al., 2009).

La zona adyacente a la zona de unión es crítica para la correcta función muscular. Esta zona contiene una densidad menor de receptores nicotínicos y un mayor número de receptores de sodio, que permitirán la despolarización celular, iniciando así la contracción muscular (Martyn et al., 2009).

FACTOR DE SEGURIDAD

Por cada impulso que llega a la unión neuromuscular se libera aproximadamente de tres a cinco veces la cantidad de ACT necesaria para realizar una correcta contracción muscular. Esto establece un factor de seguridad para evitar que la cantidad de acetilcolina liberada sea insuficiente. A su vez, existen más receptores postsinápticos de los necesarios para una buena función neuromuscular. Solo son necesarios el 25% de estos receptores para una correcta estimulación de la fibra nerviosa (Paton & Waud, 1967; Bowman, 1980).

A pesar de que la cantidad de moléculas de ACT y el número de receptores establece este factor de seguridad, la frecuencia de estimulación es un factor limitante. Así, la estimulación de la fibra muscular a frecuencias mayores de 100 veces por segundo durante varios minutos disminuye el número de vesículas sinápticas, haciendo que los impulsos no puedan producir contracción muscular correcta. Esto se denomina fatiga de la unión neuromuscular (Hall, 2006).

EL POTENCIAL DE ACCIÓN Y LA CONTRACCIÓN MUSCULAR

Una vez iniciado el potencial de acción, la diferencia del voltaje permite la apertura de los canales de Ca^{2+} del terminal nervioso. La entrada de Ca^{2+}

produce la unión de la vesículas de ACT a la membrana y la salida de ésta al espacio sináptico.

La apertura del receptor nicotínico postsináptico permite el movimiento de los iones positivos principales (Na^+ , K^+ , Ca^{2+}) (Bowman, 1980). De lo contrario, los iones negativos no lo atraviesan debido a la gran carga negativa presente en la abertura del canal, que los repele (Hall, 2006). La rápida entrada de iones Na^+ hace que el potencial eléctrico en el interior de la fibra en la zona local de la placa terminal aumente en dirección positiva desde los -80 o -90 mV a +50 – +75 mV, generando un potencial local denominado potencial de placa terminal. Este potencial es suficiente para iniciar la apertura de cada vez más canales de Na^+ , con la consiguiente entrada de una mayor cantidad de iones Na^+ y la salida de K^+ , iniciando un potencial de acción (Hall, 2006).

La fibra muscular es muy grande, por lo que, un potencial de acción debe llegar a zonas profundas de la fibra para producir contracción muscular. Para esto están los túbulos transversos (túbulos T), que permiten la transmisión del potencial de acción hacia el interior de la fibra muscular. Cuando el potencial de acción llega a los túbulos T, se libera gran cantidad de iones Ca^{2+} hacia las cisternas del retículo sarcoplasmático, que a su vez,

da lugar a la apertura de otros canales de Ca^{2+} , liberando una cantidad suficiente de iones Ca^{2+} para producir la contracción muscular (Bowman, 1980).

2.2. LOS BLOQUEANTES NEUROMUSCULARES

2.2.1. HISTORIA DE LOS BLOQUEANTES NEUROMUSCULARES

El curare, un compuesto obtenido a partir de la planta *Chondrodendrom tomentosum* (Bowman, 1980; Clarke et al., 2014), se ha usado desde hace mucho tiempo como veneno para la caza en América del Sur. Este compuesto, untado en las flechas, produce una parálisis completa de la presa y su muerte por asfixia, aunque la herida causada no sea mortal (Griffith & Johnson, 1942; Clarke et al., 2014).

Debido a la escasa absorción oral de este compuesto, los animales cazados se podían ingerir sin peligro, haciendo del curare un veneno perfecto para su objetivo. Aunque su uso era conocido fuera de América del Sur, no fue hasta la década de 1930 cuando Richard Gill, un explorador diagnosticado de esclerosis múltiple, pensó en sus posibles usos para contrarrestar la parálisis espástica producida por esta enfermedad y llevó una muestra de curare a los Estados Unidos (Clarke et al., 2014). Allí, vendió el producto a una

farmacéutica y se empezó a especular sobre sus posibles usos en anestesia (Griffith & Johnson, 1942; Clarke et al., 2014).

La anestesiología de la época se reveló contra el uso de este fármaco, ya que producía una parada respiratoria intencionada, basándose en un dicho de la época que recitaba “Si respira, hay esperanza” (Clarke et al., 2014).

Durante la década de 1940, se desarrolló la d-tubocuranina, un alcaloide cuaternario derivado del curare. Así, en 1942, Griffith y Johnson (1942) sugirieron la d-tubocuranina como fármaco para producir relajación de la musculatura esquelética de forma segura. Un año después, Cullen (1943) describió su uso en 131 pacientes. En 1945, el uso de la d-tubocuranina se expandió por Reino Unido (Clarke et al., 2014).

Los bloqueantes neuromusculares (BNM), como se denominan este grupo de fármacos, sufrieron un nuevo revés cuando en 1954, Beecher y Todd (1954) reportaron un incremento de la mortalidad de pacientes que recibieron d-Tubocuranina versus los que no la recibieron durante actos quirúrgicos. Actualmente, se atribuye este aumento de la mortalidad a la falta de conocimiento sobre la farmacocinética y farmacodinamia, la ignorancia del impacto de la parálisis residual, la falta

de guías sobre monitorización del bloqueo y la reversión de sus efectos (Naguib & Lien, 2005). Debido a esto, se inició la búsqueda de nuevos BNM.

La succinilcolina (SCC), introducida por Theslef y Foldes en 1952, cambió la práctica anestésica de manera drástica, facilitando la intubación gracias a su rápido inicio de acción y acción ultracorta (Foldes et al., 1952). Aún así, tanto la d-tubocuranina como la SCC tienen un número elevado de efectos indeseables en sistemas como el cardiovascular, afectando a los ganglios del sistema nervioso autónomo y a los receptores muscarínicos cardíacos, así como liberación de histamina (Clarke et al., 2014). Durante los años siguientes, se empezaron a desarrollar nuevos fármacos como la gallamina, el decametonio, el alcuronio y el pancuronio, pariente de los BNM más contemporáneos (Clarke et al., 2014), para encontrar fármacos más seguros y adaptables a su uso durante la anestesia. No fue hasta 1967, cuando Baird y Reid (1967) reportaron la administración clínica del pancuronio, un aminoesteroide sintético, similar en cuando a tiempo de acción a la d-tubocuranina, pero con menos efectos adversos.

El constante desarrollo de otros BNM llevó a la introducción del vecuronio y el atracurio durante la década de 1980 (Savage et al., 1980;

Clarke et al., 2014), con la ventaja de producir efectos mínimos sobre el sistema cardiovascular, así como una liberación mínima de histamina y una duración de acción más controlada (Clarke et al., 2014). El mivacurio, el primer BNM no despolarizante de acción corta, se introdujo en la práctica clínica durante la década de 1990, como el rocuronio, un BNM de duración intermedia pero con un inicio de acción rápido (Savarese et al., 1988; Wierda et al., 1990).

Desde entonces, los BNM se han convertido en parte de muchos procedimientos anestésicos y quirúrgicos contribuyendo al crecimiento de la anestesia como ciencia así como de la cirugía (Naguib & Lien, 2005).

Los primeros reportes del uso de los BNM en medicina veterinaria se remontan a 1950, con su estudio en el perro (Pickett, 1951). También se empezaron a usar en caballos durante la década de 1960 (Miller, 1966).

2.2.2. FARMACOCINÉTICA DE LOS BLOQUEANTES NEUROMUSCULARES

La farmacocinética de los BNM se puede explicar siguiendo un modelo farmacocinético bicompartimental o tricompartmental (Finkel et al., 2004). La figura 4 muestra un modelo farmacocinético bicompartimental tras la administración de un fármaco por vía intravenosa, en la que se basará la explicación.

Una vez administrado el fármaco, éste se distribuye por el compartimento central (V1), que incluye el volumen plasmático y los órganos de eliminación más irrigados. Una vez aquí, el fármaco se distribuye hacia el compartimento periférico (V2) o tejidos menos irrigados, y hacia el compartimento efecto, en este caso, la unión neuromuscular, según una constante de movimiento (k) (Naguib & Lien, 2005).

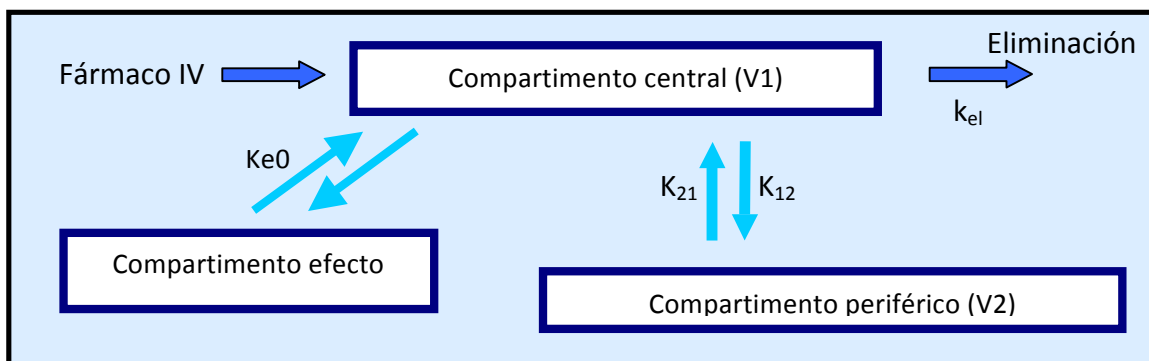


Figura 4. Modelo farmacocinético bicompartimental
Constante de equilibrio plasma-efecto (k_{e0}), constante de eliminación (k_{el}), constante de movimiento V1 – V2 (k_{12}), constante de movimiento V2 – V1 (k_{21}).

Con el tiempo, las concentraciones plasmáticas llegan a ser menores que las del compartimento periférico. En este momento, la dirección de fármaco cambia y el fármaco pasa de este compartimento hacia el central, donde es eliminado por los órganos. Este concepto es general para todos los BNM a excepción del atracurio y el cisatracurio, que se eliminan tanto del compartimento central como el periférico (Kisor et al., 1996; Weindlmayr-Goettel et al., 2002; Naguib & Lien, 2005).

2.2.3. ASPECTOS IMPORTANTES SOBRE LOS BLOQUEANTES NEUROMUSCULARES

PARÁMETROS FARMACODINÁMICOS

Para entender la farmacodinámica de los BNM, hace falta definir ciertos conceptos (Finkel et al., 2004):

- Dosis Efectiva 95 (ED₉₅): Dosis con la que obtenemos el efecto farmacológico deseado en el 95% de la población.
- Inicio de acción: Es el tiempo transcurrido desde la inyección del fármaco hasta el inicio del efecto clínico, en este caso, el bloqueo neuromuscular.
- Duración clínica efectiva: Tiempo que transcurre desde la administración del bloqueante neuromuscular y la recuperación del 25% de la altura de un estímulo aislado respecto al valor basal. Es un punto importante ya que, es el momento en el que se debería readministrar fármaco en caso que fuese necesario.
- Índice de recuperación 25-75%: Tiempo entre la recuperación del 25% y el 75% del primer estímulo respecto al valor basal. Es un valor de correlación farmacodinámica del carácter de la recuperación de cada relajante.

PRECAUCIONES CON EL USO DE LOS BLOQUEANTES NEUROMUSCULARES

Una vez administrado un bloqueante neuromuscular, debemos tener en cuenta una serie de factores para evitar un mal uso de estos fármacos (Ilkiw, 1992):

- Es obligatoria la ventilación mecánica de los pacientes ya que la musculatura estriada no cardíaca estará bloqueada.
- Los BNM carecen de propiedades anestésicas y analgésicas, así que debemos asegurar un correcto plano anestésico y una buena analgesia.
- El control del nivel de anestesia se complica ya que se carecen de los indicadores usuales de profundidad anestésica (reflejo palpebral o movimientos en respuesta a estímulos dolorosos).

RELACIÓN ENTRE POTENCIA Y DOSIS

Cuanto mayor sea la potencia de un BNM, la dosis a administrar será menor para conseguir un cierto grado de bloqueo. A su vez, esta dosis baja, tardará más en llegar al sitio de efecto en concentraciones necesarias para ejercer su efecto y su inicio de acción será más lento. En cambio, cuanto menor sea la potencia, mayor será la dosis necesaria de fármaco para conseguir el mismo grado de bloqueo, así, el tiempo a inicio de acción será más rápido que con un fármaco de mayor potencia (Kopman, 1989; Stanley & Mirakhur, 1989; Naguib et al., 1995a).

2.2.4. TIPOS DE BLOQUEANTES NEUROMUSCULARES

Existen diversas clasificaciones para los BNM. Así, los BNM pueden clasificarse según su mecanismo de acción en despolarizantes y no despolarizantes. También pueden dividirse según su estructura química en metonios, benzilisoquinolínicos, aminoesteroideos, estructuras tricuaternarias y nuevos fármacos. Finalmente, los BNM pueden agruparse según su duración de acción en ultracorta, corta, intermedia y prolongada (Finkel et al., 2004).

La clasificación más usada para su estudio es según su mecanismo de

acción, ya que presenta diferencias marcadas entre ambos grupos.

BLOQUEANTES NEUROMUSCULARES DESPOLARIZANTES

Succinilcolina

Actualmente es el único fármaco usado como BNM despolarizante tanto en medicina humana como en veterinaria (Martínez, 1999). Hasta el momento, es el único fármaco del grupo de los BNM con un inicio de acción rápido y una duración ultracorta (Naguib & Lien, 2005).

Estructura química

La molécula de SCC (Figura 6) se compone de dos moléculas de ACT unidas por grupos metil acetato (Castillo & Beer, 1950). Esta estructura explica su acción despolarizante sobre la célula muscular, igual que haría una molécula de acetilcolina, siendo así considerada la molécula de SCC como un agonista de la unión neuromuscular (Benson & Thurmon, 1980).

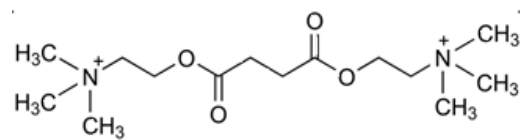


Figura 6. Estructura química de la succinilcolina

Farmacocinética y farmacodinamia

La SCC, al igual que todos los bloqueantes neuromusculares, se administra de forma intravenosa. Una

vez inyectada, es degradada por la pseudocolinesterasa plasmática a succinilmonocolina y colina. La succinilmonocolina vuelve a ser degradada a ácido succínico y colina. Tan solo el 10% del fármaco inyectado alcanza la unión neuromuscular, pudiendo así ejercer su efecto (Gissen et al., 1966; Clarke et al., 2014).

En la unión neuromuscular existe muy poca pseudocolinesterasa, por lo tanto, la degradación de la SCC no se produce en el sitio de acción. Cuando los niveles plasmáticos de fármaco disminuyen por debajo de los niveles en la unión neuromuscular, las moléculas de SCC difunden de nuevo hacia la circulación, siendo allí metabolizadas y finalizando su acción (Gissen et al., 1966; Naguib & Lien, 2005).

Características del bloqueo neuromuscular despolarizante

Según la dosis de SCC utilizada, el bloqueo despolarizante de la SCC puede desarrollarse en dos fases distintas.

○ Bloqueo de fase I

A dosis clínicas, una vez la SCC llega a la unión neuromuscular, produce una despolarización del receptor similar a la de la ACT, provocando una contracción generalizada de la musculatura. Esta despolarización continua provoca un aumento de la permeabilidad del K^+ ,

que produce una parálisis flácida por falta de excitabilidad (Gissen et al., 1966; Bowman, 1980; Marshall & Ogden, 1990). El bloqueo de fase I se caracteriza por la ausencia de desvanecimiento en el tren de cuatro y en la estimulación tetánica así como la ausencia de potenciación post tetánica (Churchill-Davidson & Christie, 1959; Ali et al., 1970; Katz, 1973).

El bloqueo de fase I no puede ser antagonizado con anticolinesterásicos (Bowman, 1980) y su uso puede alargar el efecto por inhibición de la butirilcolinesterasa o por un aumento de las concentraciones de ACT en la unión neuromuscular, que suman su efecto a la SCC (Gissen et al., 1966; Naguib & Lien, 2005).

○ Bloqueo de fase II

Existen varias propuestas sobre los diferentes mecanismos que actúan en el paso de bloqueo de fase I al bloqueo de fase II. Estas propuestas incluyen la acumulación de una gran concentración de SCC en el sitio de acción tras la administración de altas dosis o en infusión continua o por una desensibilización del receptor, que cambia su conformación (Gissen et al., 1966; Bowman, 1980). Actualmente, existe una gran variabilidad en cuanto a la dosis necesaria de SCC o al tiempo de infusión para producir un bloqueo de fase II (Ramsey et al., 1980). La peculiaridad de esta fase de bloqueo,

es que adquiere la mecánica de un bloqueo neuromuscular por BNM no despolarizantes, de los cuales se hablará más adelante. Actualmente se ha observado que la aparición de las características del bloqueo de fase II no aparece únicamente a dosis altas sino que puede aparecer a cualquier dosis, poniendo en duda lo que hasta ahora se había propuesto (Naguib et al., 2004). Aunque este tema sigue siendo muy discutido (Lee & Katz, 2005).

Usos clínicos

En medicina humana, la SCC se usa para secuencias de intubación rápida, debido a su rápido inicio de acción (30 – 60 segundos) y duración ultracorta (9 – 13 minutos) tras una dosis de 1 mg/kg (Viby-Mogensen, 1980). Una vez administrado el fármaco, la relajación de la musculatura laríngea se produce en 30 – 60 segundos (Curran et al., 1987), evitando la contracción de los aritenoides y permitiendo la intubación del paciente de forma rápida y segura.

En medicina veterinaria, en cambio, la SCC es un fármaco en desuso. La contracción de la laringe es un evento raro en las especies más comunes en medicina veterinaria y la intubación es relativamente sencilla, con excepción de las especies porcina y felina (Hubbell, 1992; Clarke et al., 2014).

Efectos adversos

Los efectos adversos de la SCC se deben a su parecido con la ACT y por lo tanto a su acción sobre todos los receptores colinérgicos, tanto nicotínicos como muscarínicos, y a su acción despolarizante (Benson & Thurmon, 1980). Así, se pueden observar (Benson & Thurmon, 1980):

1. Efectos cardiovasculares: tras la administración de SCC se puede observar bradicardia sinusal, taquicardia y disritmias ventriculares, hipotensión e hipertensión.

2. Hiperkalemia: debido a la contracción muscular generalizada, las concentraciones de potasio sérico pueden aumentar en 0,5 mEq/L en pacientes sanos.

3. Aumento de presiones: la administración de SCC produce un aumento en la presión intraocular, intragástrica y también la intracraneal.

4. Sialorrea

5. Hipertermia maligna: La hipertermia maligna es un síndrome hipermetabólico que puede llegar a ser fatal y puede ser desencadenado por fármacos halogenados o por la SCC (Iaizzo et al., 1996). Otros autores han descrito reacciones adversas similares a las producidas en la hipertermia maligna en cerdo (Sigg &

laizzo, 2000) o alteraciones musculares en pacientes susceptibles de padecer hipertermia maligna tras la administración de este fármaco (Rosenberg et al., 2007).

BLOQUEANTES NEUROMUSCULARES NO DESPOLARIZANTES

Farmacocinética y farmacodinamia

Al igual que la SCC, los BNM no despolarizantes se administran por vía intravenosa. Una vez en plasma, el fármaco se distribuye a los tejidos u órganos más vascularizados, donde la concentración de BNM va aumentando, llegando a su sitio de acción, la unión neuromuscular.

Los BNM no despolarizantes actúan uniéndose a los receptores de ACT de la unión neuromuscular, pero no lo activan, al contrario que la SCC (Bowman, 1980). Estos, a medida que el fármaco va ocupando receptores, producen un debilitamiento progresivo de la contracción muscular hasta causar una parálisis flácida (Clarke et al., 2014). El bloqueo neuromuscular no empieza a aparecer hasta que un 75 – 80% de los receptores están ocupados (Paton & Waud, 1967; Bowman, 1980).

Los BNM, a su vez, también pueden bloquear la contracción neuromuscular bloqueando el canal del receptor nicotínico. Esto se produce cuando una molécula de BNM se introduce en un

canal abierto, impidiendo el paso de iones a través suyo (Lee & Katz, 2005).

El final de acción de estos fármacos aparece cuando los niveles de ACT superan los niveles de bloqueante neuromuscular. Esto ocurre cuando la concentración de fármaco en tejidos periféricos supera la concentración plasmática. En este punto, el flujo de fármaco cambia, y empieza su eliminación (Naguib & Lien, 2005). Al ser una relación farmacológica competitiva, a medida que los niveles de fármaco disminuyen las moléculas de ACT van desplazando las moléculas de BNM presentes en la unión neuromuscular, permitiendo que sean metabolizadas y expulsadas. Así, con el paso del tiempo, los niveles de ACT superan cada vez más a los niveles de fármaco, recuperando la función muscular normal (Jones et al., 2015).

La eliminación de los BNM no despolarizantes se produce básicamente por vía biliar y renal sin cambios debido a su naturaleza hidrofílica. Sólo algunos sufren biotransformación hepática o metabolismo por esterasas plasmáticas (Bowman, 1980). Este concepto es general para los BNM no despolarizantes exceptuando el atracurio y el cisatracurio, que también se eliminan de forma espontánea en los tejidos (Kisor et al., 1996; Weindlmayr-Goettel et al., 2002).

Tipos de bloqueantes neuromusculares no despolarizantes

Existen dos grandes grupos de bloqueantes neuromusculares no despolarizantes, los aminoesteroides y los benzilisoquinolínicos. Actualmente, se están desarrollando otros BNM que no pertenecen a estos grupos, como el gantacurio.

AMINOESTEROIDES

Dentro del grupo de los aminoesteroides existen distintos fármacos, entre los que incluimos el pancuronio, el rocuronio, el vecuronio, el rapacuronio o el pipecuronio. De estos, los más utilizados son los tres primeros.

1. Pancuronio

El pancuronio (Figura 7) es un BNM de larga duración (Baird & Reid, 1967; Clutton, 2007; Plumb, 2011a). Su administración se asocia a cambios cardiovasculares debido a sus propiedades vagolíticas y simpatomiméticas (Clutton, 2007). Su principal ruta de eliminación es vía renal y biliar con cierto grado de metabolismo hepático (Plumb, 2011a).

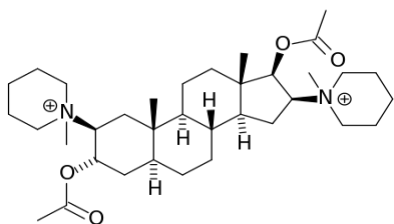


Figura 7. Estructura química del pancuronio

2. Rocuronio

Este fármaco se desarrolló como alternativa a la SCC para facilitar la intubación en medicina humana (Martínez, 1999). Tiene un inicio de acción rápido y una duración intermedia (Adamus et al., 2006; Clutton, 2007; Plumb, 2011b). El rocuronio (Figura 8) no está asociado a cambios significativos en el sistema cardiovascular (Plumb, 2011b). Su metabolismo es principalmente hepático (Plumb, 2011b).

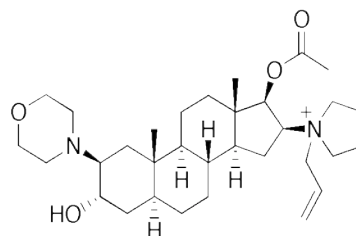


Figura 8. Estructura química del rocuronio

3. Vecuronio

Se trata de un BNM de duración intermedia, con ausencia de efectos cardiovasculares. No produce liberación de histamina (Miller et al., 1984). El metabolismo del vecuronio (Figura 9) es completamente hepático y en pacientes con enfermedad hepática su duración puede verse incrementada (Martínez, 1999).

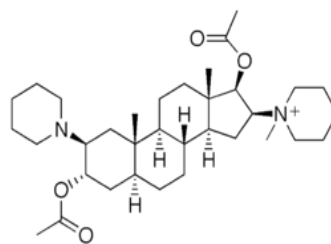


Figura 9. Estructura química del vecuronio

BENZILISOQUINOLÍNICOS

De igual forma, el grupo de los benzilisoquinolínicos incluye una gran cantidad de fármacos, con algunos de los primeros BNM usados como la d-tubocurarina o el alcuronio y fármacos más nuevos como el atracurio o el cisatracurio (CIS). Seguidamente, comentaremos los fármacos que más se utilizan en la clínica actual:

1. Atracurio

El atracurio (Figura 10) es un BNM no despolarizante de duración intermedia (Clutton, 2007) con un inicio de acción rápido (Basta et al., 1982). Su metabolismo es independiente de la función renal y hepática, ya que se degrada de forma espontánea en plasma mediante reacción de Hofmann y por la acción de esterasas plasmáticas (Ward & Neill, 1983; Fisher et al., 1986). Se ha observado una disminución de la presión arterial y taquicardia compensatoria tras la administración de dosis altas de atracurio debido a la liberación de histamina (Basta et al., 1982; Clutton, 2007). Uno de sus metabolitos, la laudanosina, se ha asociado a actividad epileptiforme aunque no se producen concentraciones peligrosas a las dosis usadas clínicamente (Chapple et al., 1987; Tateishi et al., 1989). De todas formas, debe tenerse en cuenta en pacientes con las funciones hepática y renal alteradas, para evitar una acumulación excesiva de laudanosina

(Chapple et al., 1987; Pittet et al., 1990).

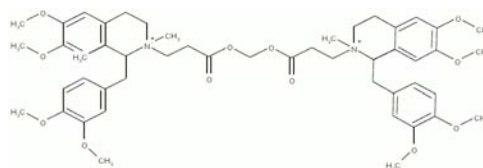


Figura 10. Estructura química del atracurio

2. Cisatracurio

El CIS (Figura 11) proviene de la mezcla racémica del atracurio, siendo uno de sus 10 isómeros (Belmont et al., 1995). Su metabolismo es parecido al del atracurio, siendo metabolizado por reacción de Hofmann en su mayoría (Kisor et al., 1996). Su administración no produce liberación de histamina y su metabolismo está ligado a la formación de laudanosina pero a concentraciones menores que con el atracurio (Lien et al., 1995; Lepage et al., 1996; Smith et al., 1997). Las características de este fármaco se desarrollarán más adelante en la presente tesis doctoral.

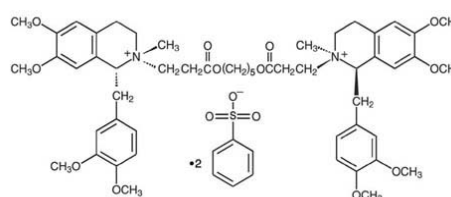


Figura 11. Estructura química del cisatracurio

3. Mivacurio

Es un BNM relativamente nuevo en la clínica veterinaria (Martínez, 1999). Se metaboliza únicamente vía esterasas plasmáticas (Savarese et al., 1988). El

mivacurio (Figura 12) tiene un inicio de acción rápido y una duración corta (Savarese et al., 1988). Puede llegar a producir liberación de histamina (Keegan, 2015).

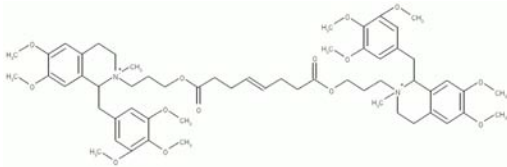


Figura 12. Estructura química del mivacurio

4. Doxacurio

Es actualmente el BNM no despolarizante más potente, con un tiempo de inicio de acción muy largo (Martínez, 1999). La eliminación del doxacurio (Figura 13) se produce básicamente por vía renal y biliar (Cook et al., 1991). Su efecto se ve incrementado en pacientes con disfunción renal o hepática (Cook et al., 1991).

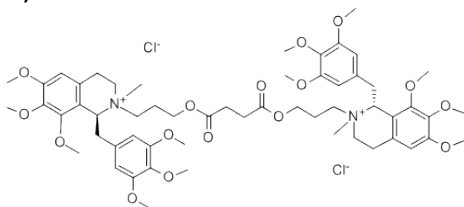


Figura 13. Estructura química del doxacurio

GANTACURIO

El gantacurio (Figura 14) es un nuevo bloqueante neuromuscular distinto a los esteroideos y benzilisoquinolínicos, clasificado dentro de una nueva clase, denominada fumaratos (Naguib & Lien, 2005). Su acción es ultracorta con un inicio de acción rápido. Está en fase de

estudio clínico en medicina humana (Naguib & Lien, 2005; Keegan, 2015).

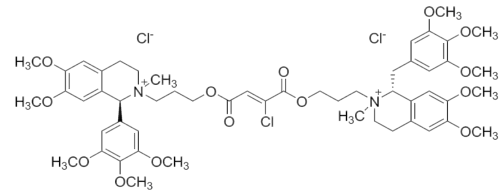


Figura 14. Estructura química del gantacurio

Características de los bloqueantes neuromusculares no despolarizantes

Los BNM no despolarizantes no causan fasciculaciones cuando se administran. Durante su acción, aparece el desvanecimiento en la contracción tetánica y el tren de cuatro. El desvanecimiento es la disminución de la altura de un estímulo con respecto a los anteriores y se produce por la falta de acetilcolina durante estímulos repetidos que no pueden superar el bloqueo neuromuscular (Naguib & Lien, 2005). Este efecto es a consecuencia de la acción sobre los receptores nicotínicos y muscarínicos presinápticos por parte de los BNM, que evitan el feedback positivo sobre la secreción de ACT por parte de la terminación nerviosa durante las contracciones musculares repetidas (Bhatt et al., 2007; Sanches-Bornia et al., 2009). Por último, el bloqueo neuromuscular no despolarizante puede ser antagonizado mediante el uso de anticolinesterásicos y otros fármacos (Bowman, 1980).

Usos clínicos de los bloqueantes neuromusculares no despolarizantes

Los BNM tienen varios usos tanto en procedimientos anestésicos como en pacientes en cuidados intensivos.

- **Pacientes de alto riesgo:** Los BNM tienen la función de relajar la musculatura esquelética. Estos fármacos pueden suplir la acción de relajación muscular de los anestésicos generales, permitiendo establecer una anestesia balanceada y disminuyendo las dosis de estos últimos, mejorando la seguridad anestésica (Clutton, 2007; Keegan, 2015).
- **Cirugía cardiotorácica:** La apertura del tórax implica la necesidad de ventilación mecánica. El uso de BNM permite disminuir la rigidez de la caja torácica, permitiendo ventilaciones a menor presión y mejorando la estabilidad cardiovascular (Clutton, 2007).
- **Laparotomía:** El uso de BNM nos permitirá disminuir la fuerza de tracción necesaria para exponer los órganos, producirá menor trauma a la musculatura y disminuirá el dolor postoperatorio (Clutton, 2007).
- **Microcirugía:** En estos casos, la inmovilidad del paciente es un requisito esencial, y los BNM nos pueden servir. Así como en cirugías

intraoculares, donde el ojo debe permanecer central para poder acceder a él (Clutton, 2007; Clarke et al., 2014).

- **Reflejos espinales:** En casos de otitis externa crónica, por ejemplo, los movimientos de cabeza pueden continuar existiendo aún cuando la profundidad anestésica es alta (Clutton, 2007; Keegan, 2015).
- **Patrón ventilatorio ineficiente:** Existen pacientes o situaciones quirúrgicas que vienen ligadas a patrones respiratorios extraños o inefectivos, que comprometen el intercambio efectivo de gases y complican la cirugía. El uso de BNM conjuntamente con la ventilación mecánica puede mejorar el intercambio de gases, mejorando así el estado del paciente tanto anestesiado como en cuidados intensivos (Dhonneur et al., 2001; Clutton, 2007).

Efectos adversos de los bloqueantes neuromusculares no despolarizantes

Los BNM no despolarizantes son uno de los grupos de fármacos con mayor número de casos de reacciones adversas. En el Reino Unido, los BNM son los causantes de un 10,8% de las reacciones adversas a fármacos y un 7,3% de las muertes por fármacos (Anaesthetists, 1986).

1. Efectos autonómicos

A parte de actuar en los receptores nicotínicos de la unión neuromuscular, los BNM también pueden llegar a afectar a los receptores muscarínicos y nicotínicos de los sistemas simpático y parasimpático (Naguib & Lien, 2005). Esta afectación del sistema nervioso autónomo puede producir efectos en la frecuencia cardíaca, como taquicardia o bradicardia, o en la presión arterial.

2. Liberación de histamina

Este efecto adverso aparece sobretodo tras la administración de fármacos de la familia de los benzilisoquinolínicos, sobretodo tras la administración de los fármacos más antiguos o con dosis elevadas de los más nuevos (Basta et al., 1982; Naguib et al., 1995b; Wastila et al., 1996; Martínez, 1999; Naguib & Lien, 2005). La histamina produce eritema, vasodilatación con hipotensión y taquicardia compensatoria (Lepage et al., 1996; Naguib & Lien, 2005). La aparición de broncoespasmo debido a la liberación de histamina es raro (Naguib & Lien, 2005). Este efecto es corto, de unos 5 minutos de duración, y clínicamente insignificante en pacientes sanos (Naguib & Lien, 2005).

La liberación de histamina puede reducirse si se administra el bolo de fármaco de forma lenta (durante 75 segundos) o con la administración de antagonistas H₁ y H₂ quince minutos

antes de la administración del fármaco (Scott et al., 1985).

3. Reacciones alérgicas

Las reacciones anafilácticas por la administración de fármacos son reacciones inmunitarias mediadas por Inmunoglobulinas E (Krombach et al., 2001; Michalska-Kranowska, 2012). Las reacciones anafilactoides se producen por una respuesta exagerada al fármaco administrado pero no de forma inmunomediada (Coca & Cooke, 1923; Michalska-Kranowska, 2012). La frecuencia de estas reacciones adversas es de 1 de cada 1000 y 1 de cada 10000 anestesis respectivamente, con un 5% de mortalidad, siendo los BNM los causantes entre un 50% y un 60% de los casos (Laxenaire et al., 1983; Laxenaire et al., 1996; Laxenaire et al., 1999; Krombach et al., 2001).

Los efectos son parecidos a los producidos por una liberación de histamina, aunque el compromiso sistémico es mucho mayor (Bochner & Lichtenstein, 1991).

2.2.5. CARACTERÍSTICAS IDEALES DE UN BLOQUEANTE NEUROMUSCULAR

Hasta el momento, ninguno de los fármacos comentados cumple con las características del BNM ideal aunque la aparición de nuevos fármacos nos acerca cada vez más. Así, según Finkel

et al. (2004) el bloqueante neuromuscular ideal debería ser:

- Un fármaco de acción no despolarizante.
- Con un tiempo de acción corto o ultracorto y una duración corta o ultracorta.
- Con una potencia elevada y buenas condiciones para la intubación.
- Con una recuperación rápida, predecible y espontánea o de fácil reversión.
- Que se elimine por degradación espontánea de forma rápida e independiente de órganos y sistemas.
- Con una mínima distribución, ausencia de redistribución sistémica y de efectos adversos.
- Con una gran estabilidad en soluciones, sin necesidad de refrigeración.
- Que ofrezca la posibilidad de realizar infusiones continuas.

2.2.6. FACTORES QUE AFECTAN AL BLOQUEO NEUROMUSCULAR

1. Variación individual

Se ha observado una gran variación interindividual en cuanto a la acción de los BNM, observándose desde una ausencia de respuesta a un bloqueo neuromuscular completo con una misma dosis de BNM (Ruiz, 2001; Clutton, 2007).

2. Enfermedad hepática y/o renal

En presencia de estas dos enfermedades, tanto el metabolismo como la biotransformación como la eliminación de fármacos pueden verse disminuidas.

La insuficiencia hepática puede aumentar el volumen de distribución y la vida media, alterando el efecto y la duración de los BNM (Duvaldestin et al., 1978; De Wolf et al., 1996). La disminución de las esterasas plasmáticas, sintetizadas en el hígado, puede disminuir la biotransformación de fármacos como el mivacurio o de ciertos metabolitos, como en el caso de la laudanosina en el atracurio o en el CIS (De Wolf et al., 1996). La colestasis enlentece la eliminación biliar de ciertos BNM como el pancuronio (Westra et al., 1981).

En pacientes con insuficiencia renal, el bloqueo neuromuscular puede estar aumentado debido a una falta de excreción de fármaco (Della Rocca et al., 2003). En casos de pacientes con enfermedad renal, el uso de fármacos con vías de excreción alternativas como la SCC, el mivacurio, el rocuronio, el atracurio y el CIS son de utilidad para evitar posibles efectos adversos o aumentos de la duración del fármaco (Gissen et al., 1966; Savarese et al., 1988; Della Rocca et al., 2003).

3. Fármacos anestésicos

Los agentes inhalatorios provocan un aumento en la intensidad y la duración del bloqueo neuromuscular de la SCC así como de los BNM no despolarizantes (Miller et al., 1971; Rupp et al., 1984; Wulf et al., 1998; Kastrup et al., 2005). Existen varias posibilidades para explicar el efecto de los anestésicos inhalatorios sobre la función neuromuscular. Los distintos mecanismos propuestos son un efecto directo de los inhalatorios sobre las neuronas implicadas en la contracción neuromuscular, una acción inhibitoria directa sobre los receptores nicotínicos o un aumento de la afinidad del receptor postsináptico por los BNM (Brett et al., 1988; Dilger et al., 1994; Péréon et al., 1999; Paul et al., 2002). A su vez, la mayoría de anestésicos inyectables causan pocos efectos en el bloqueo neuromuscular (Kastrup et al., 2005) aunque pueden verse cambios en el tiempo de inicio de acción según el fármaco usado (Braga et al., 2013).

Podemos clasificar a los fármacos anestésicos según su afectación en el bloqueo neuromuscular, siendo de mayor a menor efecto, desflurano = sevoflurano > isoflurano > inyectables (Wulf et al., 1998).

4. Alteraciones ácido-base

De forma general, la acidosis respiratoria o hipercapnia aumenta la intensidad del bloqueo neuromuscular,

y la alcalosis respiratoria o hipocapnia disminuye su efecto (Gencarelli et al., 1983; Clarke et al., 2014; Keegan, 2015). El CO₂ tiene cierto efecto depresor en la excitabilidad nerviosa, y aumenta así el efecto de los BNM.

El aumento de pH que se produce durante la alcalosis, provoca la ionización de zonas concretas de la d-tubocuranina. Estos cambios impiden una correcta unión con los receptores nicotínicos postsinápticos por repulsión entre las cargas negativas. A su vez, la alcalosis podría llevar a un aumento de la permeabilidad celular a ciertos BNM y una disminución de fármaco en sangre y por lo tanto, menor efecto (Baraka, 1964).

Gencarelli et al. (1983) observaron que la acidosis respiratoria producía un aumento significativo del efecto del vecuronio y de forma más leve el efecto del pancuronio. A su vez, Ono et al. (1988) encontraron aumentos similares con la d-tubocuranina y el vecuronio y observaron resultados menos evidentes con el alcuronio y el pancuronio. El bloqueo neuromuscular con atracurio también se ve aumentado durante la acidosis respiratoria (Hughes & Chapple, 1981).

5. Alteraciones electrolíticas

El potasio es uno de los principales iones involucrados en la contracción muscular. Disminuciones del potasio

provocan un aumento en la diferencia de potencial entre el interior y el exterior de la célula y resistencia a la despolarización de la célula muscular, aumentando por lo tanto el efecto de los BNM. Por el contrario, la hiperkalemia aguda disminuye el potencial de membrana, facilitando la despolarización de la célula muscular y disminuyendo el efecto de los BNM (Clarke et al., 2014; Keegan, 2015). Cuando la hiperkalemia se cronifica, la bomba Na^+/K^+ empieza a agotarse debido al aumento en las despolarizaciones, implicando una disminución en la excitabilidad de la membrana celular y aumentando en este caso el bloqueo neuromuscular (Wilbanks et al., 2005).

El magnesio puede afectar la contracción neuromuscular. Un aumento del magnesio disminuye la secreción de acetilcolina, ya que disminuye la acción de los canales de calcio presinápticos e inhibe los potenciales postsinápticos con la disminución de la excitabilidad de la membrana, por lo tanto aumentando el efecto de los BNM (Sinatra et al., 1985; Naguib et al., 2002).

Finalmente, un aumento del calcio disminuye el efecto de la d-tubocuramina, el pancuronio y posiblemente otros BNM como el atracurio (Waud & Waud, 1980; Naguib

et al., 2002), facilitando la salida de ACT y, por lo tanto, la contracción muscular.

6. Hipotermia

La disminución de la temperatura corporal produce una vasoconstricción generalizada, con menor llegada y salida del fármaco de la biofase, menor actividad enzimática y menor llegada de fármaco a los órganos excretores, disminuyendo su eliminación (Ham et al., 1978; Miller et al., 1978; Heier et al., 1991). A su vez, disminuye la conducción nerviosa y la contracción muscular de forma directa (Clarke et al., 2014).

La fuerza de contracción del músculo aductor del pulgar disminuye entre un 10 – 16% por cada grado centígrado de disminución de la temperatura muscular por debajo de 35,2°C (Heier et al., 1989). Para mantener esta temperatura, la central debe estar por encima de los 36°C (Heier et al., 1991).

La reacción de Hofmann también se ve enlentecida por la hipotermia, la duración de 0,5 mg/kg de atracurio aumenta de 44 minutos a 37°C a 68 minutos a 34°C (Leslie et al., 1995). En definitiva, la hipotermia aumenta la duración de la acción de los BNM no despolarizantes (Heier et al., 1991; Leslie et al., 1995).

7. Edad

En pacientes neonatos o pacientes ancianos, la vida media de los BNM se ve alargada y el aclaramiento de estos fármacos disminuye (Naguib & Lien, 2005; Guo et al., 2015). Los primeros cuentan con receptores inmaduros y un aclaramiento plasmático disminuido debido a sus ineficientes sistemas hepático y renal (Kisor et al., 1996; Guo et al., 2015). En los ancianos, un menor aclaramiento plasmático y variaciones en el volumen de distribución, pueden producir un aumento del efecto o la duración de los BNM aunque la farmacocinética en este grupo de edad se encontró bastante similar a la de los adultos (Ornstein et al., 1996; Sorooshian et al., 1996; Clarke et al., 2014).

En cambio, en pacientes jóvenes (1 – 6 años), el inicio de acción de los fármacos parece que sea más rápido y que su efecto termine antes (Fisher, 1999; Guo et al., 2015). En estos pacientes, suelen ser necesarias dosis más elevadas de fármaco ya que tienen un volumen de distribución elevado así como un aumento del aclaramiento plasmático (Imbeault et al., 2006; Guo et al., 2015).

8. Enfermedad neuromuscular

Los animales con problemas neuromusculares pueden tener respuestas impredecibles. Los pacientes con *miastenia gravis*, por

ejemplo, son resistentes a la succinilcolina pero sensibles a los BNM no despolarizantes (Nilsson & Meretoja, 1990; Baraka, 1992; Elarief et al., 2006; Shilo et al., 2011).

9. Fármacos antibióticos

Los efectos más claros aparecen con la polimixina y los aminoglicósidos. La primera deprime la actividad en los receptores nicotínicos postsinápticos, aumentando el efecto de los BNM no despolarizantes (Sanders & Sanders, 1979; Sokoll & Gergis, 1981) a su vez, también actúa como anestésico local y deprime la estimulación muscular directa (Sanders & Sanders, 1979). Los aminoglicósidos compiten con el calcio y actúan en los receptores nicotínicos presinápticos, disminuyendo la liberación de ACT (Singh et al., 1978; Sanders & Sanders, 1979).

Las tetraciclinas también aumentan el efecto de los BNM deprimiendo la liberación de acetilcolina provocada por una quelación del calcio y con una acción inhibitoria postsináptica (Sokoll & Gergis, 1981).

La lincomicina y la clindamicina tienen un efecto directo sobre la musculatura, deprimiendo la sensibilidad de los receptores postsinápticos para la acetilcolina (Wright & Collier, 1976; Sokoll & Gergis, 1981).

Las cefalosporinas y las penicilinas no parecen tener un efecto sobre el bloqueo neuromuscular (Naguib & Lien, 2005).

10. Otros fármacos

Los anestésicos locales tienen acción directa sobre los receptores pre y postsinápticos y sobre la membrana muscular, bloqueando la transmisión nerviosa y aumentando el efecto de bloqueo neuromuscular (Telivuo & Katz, 1970; Naguib & Lien, 2005; Braga et al., 2009).

Los fármacos anticonvulsivos ejercen un efecto depresor sobre la liberación de acetilcolina en la unión neuromuscular y pueden producir cambios iónicos, aumentando el bloqueo neuromuscular (Selzer et al., 1985). La terapia crónica con anticonvulsivos, en cambio, demuestra resistencia a los BNM no despolarizantes excepto en el caso del mivacurio y del atracurio (Ornstein et al., 1987; Spacek et al., 1996).

El dantrolene, fármaco usado en el tratamiento de la hipertermia maligna, previene la liberación de Ca^{2+} desde el retículo sarcoplasmático y bloquea el acoplamiento excitación – contracción de las proteínas musculares, deprimiendo la respuesta mecánica y aumentando el efecto de los BNM (Lee & Katz, 1980; Naguib & Lien, 2005).

Los corticoesteroides como la prednisolona, dexametasona y betametasona antagonizan el efecto de los BNM en medicina humana y en medicina veterinaria, probablemente debido a un aumento de la síntesis y liberación de ACT (Meyers, 1977; Parr et al., 1991).

2.2.7. MONITORIZACIÓN DEL BLOQUEO NEUROMUSCULAR

Hasta hace poco, la monitorización del bloqueo neuromuscular no estaba muy extendida y su control se basaba en la recuperación de la respiración espontánea o de los reflejos motores y la posición del globo ocular (Clutton, 2007). Esto comportaba la aparición de un gran número de casos de parálisis muscular residual postanestésica de la cual se hablará más adelante.

Actualmente, la monitorización del bloqueo neuromuscular se ha extendido debido a la importancia de un buen control de la finalización del efecto. La monitorización del bloqueo neuromuscular se realiza mediante la estimulación de un nervio motor periférico y la medida de la fuerza o el número de contracciones derivadas de dicha estimulación (Clutton, 2007; Fuchs-Buder et al., 2009; Martin-Flores et al., 2011). La fuerza e intensidad de la respuesta, dependerán del número de fibras activadas. Con una intensidad suficiente, se estimulan todas las fibras

musculares y se obtendrá una respuesta a máximo nivel (Fuchs-Buder et al., 2007). Así, las estimulaciones para la medida del bloqueo neuromuscular deben de tener una intensidad un 15-20% superior a la máxima, para asegurar una estimulación de todas las fibras nerviosas (estimulación supramáxima) (Fuchs-Buder et al., 2007).

El lugar de estimulación depende de varios factores (Fuchs-Buder et al., 2009):

- Debe ser un sitio de fácil acceso.
- Debemos evitar la estimulación directa del músculo.
- Seleccionar una unidad nervio-muscular que permita una monitorización cuantitativa.

El sitio más usado para la monitorización neuromuscular en medicina humana es la unidad de nervio ulnar y músculo aductor del pulgar. Otros sitios de estimulación usados son el nervio tibial posterior y el músculo flexor corto del primer dedo o la estimulación del nervio facial con la medición en los músculos orbicular del ojo o el depresor superciliar (Fuchs-Buder et al., 2009). En medicina veterinaria, los lugares de monitorización más comunes son la estimulación del nervio facial con el músculo elevador nasolabial, el nervio ulnar con los músculos flexores del carpo o el nervio peroneal profundo

con los extensores digitales dependiendo de la especie (Clutton, 2007).

Debemos tener en cuenta que no todos los lugares de monitorización tienen la misma sensibilidad al bloqueo neuromuscular. De forma general, la musculatura central, que incluye los relacionados con la respiración y músculos faciales, es más resistente al bloqueo neuromuscular aunque su relajación y recuperación es más temprana debido al mayor aporte de sangre que reciben. La musculatura periférica, en cambio, es más sensible a los BNM, pero tarda más en relajarse y en recuperarse ya que recibe un aporte sanguíneo menor (Donati et al., 1991; Kirov et al., 2004; Clutton, 2007).

No obstante, existen variaciones en la resistencia muscular frente al vecuronio como la descrita por Sarrafzadeh-Rezaei & Clutton (2009), donde la musculatura de las extremidades fue más resistente que la musculatura facial en perros bajo anestesia con halotano. O en el caso del cerdo, también con vecuronio, en donde la musculatura de las extremidades se recuperó antes que la laríngea (Shi et al., 2008).

NORMATIVA DURANTE LA MONITORIZACIÓN NEUROMUSCULAR

Durante el año 2007 se actualizaron las guías para la realización de estudios

farmacodinámicos para los BNM. En estas guías se establecen las bases para unificar los pasos a realizar, los tipos de monitorización y la toma de datos en dichos estudios. En la tabla 1 se muestran los pasos a seguir para una

correcta preparación del paciente y la consiguiente monitorización así como las variables a reportar si no se realizan de la forma prevista.

Tabla 1. Procedimientos en estudios farmacodinámicos para los BNM (En: Fuchs-Buder et al. (2007)).

Procedimiento	Normativa	Variaciones a reportar
Preparación de la piel	Limpia, seca y frotada con un abrasivo	
Electrodos de estimulación	Área de contacto de 7 – 11 mm Electrodos separados entre 3 – 6 cm	
Lugar de monitorización	Nervio ulnar y músculo aductor del pulgar	Otro lugar de monitorización
Patrones de estimulación	Duración del estímulo: 200 μ s TOF: 2 Hz durante 1,5 s cada 10s 0,1 Hz: Estimulación simple cada 10s PTC: Estimulación 50 Hz durante 5s seguida por estímulo simple a los 3s DBS 3/3: Dos ráfagas de triple estimulación a 50 Hz durante 40 ms separadas por 750 ms.	Otros estímulos Otros tiempos entre estímulos Tiempos entre PTC
Estabilización del señal	Estimulación supramáxima Respuesta control: Variación < 5% durante mínimo 2 minutos antes del BNM con el mismo patrón de estimulación que se va a usar durante la investigación	
Recuperación estable	Se define como una respuesta de la primera contracción (T1) estable entre 80-120% y una TOF ratio $\geq 0,9$ con una variación $\leq 5\%$ durante 2 minutos	La magnitud del cambio de T1
Temperatura	Central $\geq 36^{\circ}\text{C}$ o Periférica $\geq 34^{\circ}\text{C}$	Rectal o esofágica
Ventilación	Reportar el EtCO ₂ y/o la PaCO ₂ Dar límites para normoventilación	
Anestesia inhalatoria	Reportar la concentración espiratoria y la duración	Agente usado

Tren de cuatro (TOF), conteo post-tetánico (PTC), estimulación de doble ráfaga (DBS), bloqueante neuromuscular (BNM).

PATRONES DE ESTIMULACIÓN

La monitorización neuromuscular se puede llevar a cabo mediante distintos patrones de estimulación según las necesidades de monitorización. Así, podemos diferenciar entre:

1. Estímulo único (Single switch - ST)

Consiste en la aplicación de un estímulo único supramáximo (Figura 15). En la práctica clínica tiene poco valor, ya que no provee información fiable sobre el inicio o la recuperación del bloqueo neuromuscular (Fuchs-Buder et al., 2009).

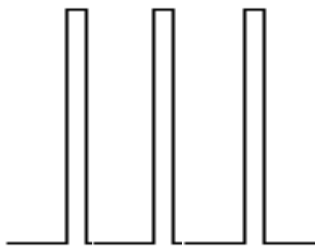
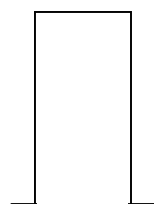


Figura 15. Secuencia de tres estímulos

2. Estimulación tetánica (Tetanic stimulation - TS)

Es un estímulo de alta frecuencia (50 – 200 Hz) aplicado durante 5 segundos (Figura 16), efectuando una contracción muscular única y sostenida ante la falta de bloqueo (Fuchs-Buder et al., 2009).



5 segundos

Figura 16. Estimulación tetánica

3. Conteo post-tetánico (Post Tintanic Count – PTC)

Permite una valoración táctil o visual de la profundidad de un bloqueo no despolarizante que no responde a otros patrones (Viby-Mogensen et al., 1981). Al aplicarlo, se ejerce un estímulo de 50 Hz seguido, después de tres segundos, por varios estímulos a 1 Hz (Figura 17). Si el bloqueo neuromuscular es muy profundo, no existirá respuesta alguna al estímulo post tetánico. En cambio, si aparecen de cinco a siete estímulos post tetánicos, la recuperación del tren de cuatro es inminente (Fuchs-Buder et al., 2009).

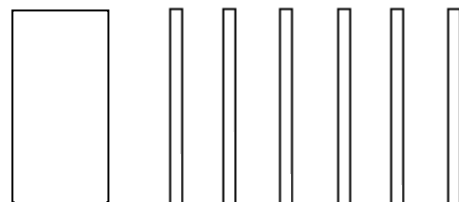


Figura 17. Estimulación tetánica con conteo post-tetánico

4. Estimulación de doble ráfaga (Double Burst Stimulation - DBS)

Permite una mejor valoración táctil del bloqueo neuromuscular que el tren de cuatro. Se aplican dos ráfagas de estímulos de 50 Hz separados por 750 ms (Figura 18), cada ráfaga se compone de dos o tres impulsos (Fuchs-Buder et al., 2009). Este método permite una mayor sensibilidad a la hora de evaluar el bloqueo residual de forma táctil que el tren de cuatro (Drenck et al., 1989).

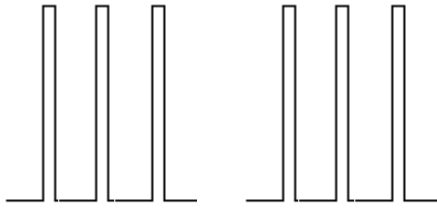


Figura 18. Estimulación de doble ráfaga

5. Tren de cuatro (Train of four – TOF)

Consiste en la aplicación de cuatro estímulos de 2 Hz durante 2 segundos (Figura 19) que permiten una valoración más fiable del bloqueo neuromuscular. En ausencia de bloqueo neuromuscular, las cuatro respuestas deben ser de la misma altura. Entre cada TOF, debe haber 10 segundos mínimo para evitar el agotamiento de la unión neuromuscular (Fuchs-Buder et al., 2009). La relajación muscular se mide según la depresión de la segunda, tercera y cuarta respuesta en función de la primera. En sus inicios, se estableció que la cuarta respuesta (T4) desaparecía cuando la primera (T1) tenía un 25% de la altura control. La tercera respuesta (T3), desaparecía cuando T1 llegaba al 20% de la altura control, mientras que la segunda respuesta (T2) desaparecía con una T1 del 10% del control (Mazzinari, 2015). Se ha observado que estas relaciones, aunque sirven de guía, no son reales en todos los casos.

Este tipo de estimulación permite obtener, a su vez, la TOF ratio (TOFR), que se consigue dividiendo la altura del cuarto estímulo por la altura del primero y da información sobre la recuperación de la función muscular (Fuchs-Buder et al., 2009). Una TOFR mayor a 0,7 indica buena recuperación de la función diafragmática, mientras que la función faríngea y una recuperación adecuada implican una TOFR mayor de 0,9 (Fuchs-Buder et al., 2009). Actualmente se recomienda siempre esperar a la recuperación de una TOFR superior a 0,9. Así evitamos la posible aparición de complicaciones asociadas a la parálisis muscular residual.

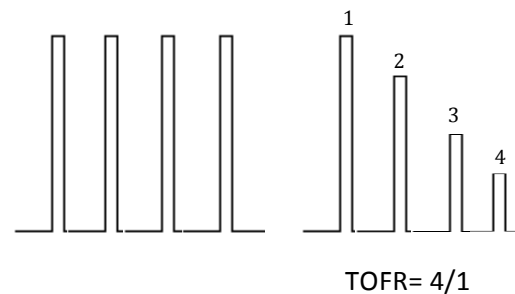


Figura 19. Tren de cuatro sin bloqueo neuromuscular (izquierda). Tren de cuatro con bloqueo neuromuscular parcial (derecha).

MONITORIZACIÓN DE LA RESPUESTA A LA ESTIMULACIÓN NEUROMUSCULAR

La monitorización visual subjetiva sigue siendo aún una de las técnicas más usadas para monitorizar el grado de bloqueo neuromuscular durante la

práctica clínica (Martin-Flores et al., 2008). No obstante, actualmente, existen equipos de monitorización más sofisticados para la monitorización objetiva del bloqueo neuromuscular. Éstos son la mecanomiografía, la electromiografía y la aceleromiografía (Fuchs-Buder et al., 2009).

1. Monitorización visual

Inicialmente, la monitorización del bloqueo neuromuscular se realizaba mediante la recuperación de signos como la respiración espontánea o los movimientos musculares espontáneos. Esto se ha ido abandonando debido a que, en perros, se ha demostrado que la recuperación de la ventilación espontánea no excluye la posibilidad de parálisis residual (Martin-Flores et al., 2014). La monitorización visual se basa en la observación de la respuesta muscular a un patrón de estimulación nerviosa, normalmente el TOF. Así, cuando se produce un estímulo, la persona responsable de la monitorización observa el número de respuestas y la fuerza de éstas para establecer el grado de bloqueo. Este tipo de monitorización está asociado a una alta incidencia de parálisis residual en medicina humana (Ansermino et al., 1996; Claudius & Viby-Mogensen, 2008). En caballos, aunque el inicio de acción del bloqueo neuromuscular se detectó igual con monitorización visual y aceleromiografía, esta última se mostró mucho más eficaz en la

detección de parálisis residual (Martin-Flores et al., 2008).

2. Mecanomiografía (MMG)

Se considera el “gold standard” de la monitorización para la investigación de nuevos BNM aunque tiene poca utilidad en la práctica clínica (Fuchs-Buder et al., 2009).

Se basa en la medida de contracciones isométricas de un músculo tras la estimulación nerviosa (Fuchs-Buder et al., 2009). Durante el uso de este método, la extremidad usada debe ser inmovilizada y se debe usar una precarga de para estabilizar el señal (Fuchs-Buder et al., 2009).

3. Electromiografía (EMG)

Se trata de la técnica más antigua para la estimación del bloqueo neuromuscular (Fuchs-Buder et al., 2009). Se basa en que la fuerza de la contracción muscular es proporcional a la combinación de los potenciales de acción musculares, así, el equipo mide la actividad eléctrica del músculo estimulado (Fuchs-Buder et al., 2009). Por lo tanto, cambios en la fuerza de contracción son proporcionales a los cambios en la suma de potenciales de acción (Fuchs-Buder et al., 2007).

Este método ha demostrado buena correlación con la MMG, aunque no pueden ser usados de manera intercambiable (Fuchs-Buder et al.,

2009). Su estudio en comparación con la aceleromiografía en perros demostró que la EMG detectaba presencia de bloqueo neuromuscular residual cuando la aceleromiografía mostraba una recuperación completa (Sakai et al., 2015). Su uso se restringe básicamente a estudios de investigación (Fuchs-Buder et al., 2009).

4. Kinemiografía

Se trata de medir la flexión de un pequeño sensor piezoeléctrico situado entre los dedos índice y pulgar. Aunque se han comparado con la MMG, no pueden usarse de forma intercambiable (Dahaba et al., 1999).

5. Fonomiografía

Se basa en la medición de sonidos de baja frecuencia ejercidos por las contracciones musculares mediante pequeños micrófonos situados en la piel (Descalu et al., 1999). De momento aún no es más que un prototipo (Fuchs-Buder et al., 2007).

6. Aceleromiografía (AMG)

Se trata de uno de los métodos objetivos más populares debido a su precio y facilidad de uso (Ansermino et al., 1996; Suzuki et al., 2006; Fuchs-Buder et al., 2009). La AMG mide la aceleración isotónica del músculo estimulado mediante una pequeña pieza de cerámica piezoeléctrica (Fuchs-Buder et al., 2007; Claudius & Viby-Mogensen, 2008). Se basa en la

segunda ley de Newton, dónde se dice que la fuerza es igual a la masa por la aceleración. Si la masa es constante, entonces, la fuerza de contracción muscular se puede calcular si se sabe la aceleración (Claudius & Viby-Mogensen, 2008; Fuchs-Buder et al., 2009).

La AMG se correlaciona bastante bien con la MMG y la EMG aunque sus valores no pueden ser comparados directamente (Kopman, 2005; Claudius & Viby-Mogensen, 2008; Fuchs-Buder et al., 2009). La AMG puede sufrir interferencias debidas a artefactos, movimiento del paciente o respuestas inestables (Fuchs-Buder et al., 2009) aunque los equipos más modernos son menos sensibles a estos artefactos (Claudius & Viby-Mogensen, 2008). Debido a su facilidad de uso, esta técnica se está usando cada vez más para procedimientos de investigación (Fuchs-Buder et al., 2009), especialmente en procedimientos clínicos.

Monitor TOF-Watch®

Actualmente podemos encontrar diversos tipos de monitores aceleromiográficos. Dentro de la serie TOF-Watch® (Organon Ltd, Holanda), existen distintas versiones, entre las que encontramos el TOF-Watch®, TOF-Watch® S y el TOF-Watch® SX. El único que se puede usar en investigación es el último, ya que los dos primeros

contienen un algoritmo que no permite proporcionar TOFR mayores al 100% (Mazzinari, 2015). A su vez, el TOF-Watch® SX (Figura 20) puede conectarse a un software de ordenador, pudiendo registrar los datos en éste y analizarlos posteriormente.



Figura 20. TOF-Watch® SX monitor (Organon Ltd, Holanda)

POTENCIACIÓN Y ESTABILIZACIÓN DE LA SEÑAL

Se ha demostrado que la estimulación muscular continuada produce un aumento de la respuesta mecánica conocida como fenómeno de facilitación o potenciación (Krarup, 1981) tanto con el uso de la MMG como con la AMG (Kopman et al., 2001). Esta potenciación es debida a un aumento en la acumulación de Ca^{2+} y la liberación de acetilcolina por parte de la terminación nerviosa (Hurbult et al., 1971; Bhatt et al., 2007). Martin-Flores et al. (2011), observaron aumentos en la T1 de hasta un 140% del valor basal

tras 20 minutos de estimulación. Si no tenemos en cuenta este fenómeno y nuestra decisión para terminar la medición es la recuperación de la T1 a valores basales, podemos introducir un sesgo, ya que durante la recuperación ésta puede ser mucho más elevada. La estabilización de la señal implica la estimulación constante mediante el mismo método de estimulación con el que se realizará la monitorización neuromuscular. Para considerar esta señal estable, debemos obtener un valor basal con una variación inferior al 5% durante 2 – 5 minutos (Fuchs-Buder et al., 2007). La estabilización suele durar de 5 – 20 minutos si se realiza mediante estímulos únicos a 0,1 Hz (Fuchs-Buder et al., 2007). Este tiempo se puede reducir a 2 – 5 minutos tras la administración de un estímulo tetánico de 50Hz durante 5 segundos seguido de estimulación TOF (Kopman et al., 2001).

En cambio, si basamos nuestra recuperación en la TOFR, ésta no se ve afectada por el fenómeno de potenciación ya que todas las respuestas al tren de cuatro aumentan en la misma proporción (Suzuki et al., 2006; Martin-Flores et al., 2011). Aún así, los valores de TOF ratio durante el uso de la AMG, en contraste con la MMG o la EMG, suelen ser mayores al 1,0 (100%) (Claudius & Viby-Mogensen, 2008). Suzuki et al. (2006) observaron valores de TOFR basal entre los 0,95 y 1,47. Es por esto que, durante la

monitorización del bloqueo neuromuscular teniendo como punto final una recuperación de la TOFR superior a 0,9, no es necesaria la estabilización del señal previa, aunque si deberemos obtener un valor basal, para poder normalizar las mediciones posteriormente.

La duración de la estabilización puede afectar al inicio de acción y a la recuperación del bloqueo neuromuscular durante la MMG (McCoy et al., 1995). En cambio, no se vio este efecto sobre el inicio de acción ni la recuperación con AMG (Girling & Mahajan, 1996; Hemmerling et al., 2002). Por lo tanto, si se usa la MMG, es necesario estandarizar un tiempo de estabilización para evitar que el tiempo afecte a los valores de inicio de acción y tiempos de recuperación.

NORMALIZACIÓN

Como ya hemos comentado, el fenómeno de potenciación puede hacer variar los valores de T1 durante la monitorización neuromuscular, pudiendo afectar a los resultados que se obtienen de dicha monitorización si no se estabiliza la señal y se obtiene un valor basal estable. Aún así, Kopman et al. (2001) observaron variaciones de la T1 de entre un 87 y un 136% con respecto al valor basal tras 22,5 minutos de estabilización.

Teniendo en cuenta que tanto si basamos nuestra monitorización en la primera respuesta del TOF como en la TOFR podemos obtener valores alterados, al final de nuestra monitorización deberemos normalizar los valores obtenidos (Kopman et al., 2002; Kopman, 2005; Suzuki et al., 2006).

En el caso de la monitorización mediante TOFR, debemos obtener un valor basal sin necesidad de estabilizar la señal previamente. Si nuestra meta es conseguir una TOFR superior a 0,9, deberemos saber que TOFR exacta se corresponde con nuestro valor basal. Por ejemplo, si obtenemos una TOFR de 1,20 antes de administrar el bloqueante neuromuscular, una TOFR de 0,9 al despertar correspondería a una TOFR normalizada de 0,75 (90/120) (Kopman et al., 2002; Claudius & Viby-Mogensen, 2008). Un valor de TOFR de 0,75 nos está indicando que la recuperación del bloqueo neuromuscular aún no es suficiente y que deberíamos esperar a obtener un valor de TOFR de 1,08 para poder asegurar la ausencia de bloqueo neuromuscular (Suzuki et al., 2006). Esta opción es la preferida en clínica, ya que no es necesaria la estabilización previa, sólo necesitamos obtener una medición basal antes de administrar el bloqueante neuromuscular.

En cambio, si nuestra monitorización se basa en la altura de T1, deberemos tener en cuenta el fenómeno de potenciación. Es este caso, lo recomendable es obtener un valor estable como se ha mencionado anteriormente. Por ejemplo, si nuestra meta es conseguir un valor final de T1 del 100% del valor basal y no obtenemos un valor estable al inicio, a causa de la potenciación, los valores finales de T1 podrían ser del 130%. Cuando nosotros obtengamos un valor de T1 final del 100%, realmente la T1 del paciente en este momento sería del 77%, indicando una falta de recuperación del bloqueo neuromuscular y la posible aparición de complicaciones asociadas a ella (Martin-Flores et al., 2011). Si no podemos estabilizar la señal, deberíamos esperar a que, durante la recuperación, la T1 fuese estable y normalizarla según el valor basal para estar seguros de que no existe riesgo de BNM postanestésico (Martin-Flores et al., 2011).

Si realizamos la estabilización previa, en cambio, la normalización al final puede no ser necesaria, ya que, en principio, los valores de T1 no deberían aumentar (Martin-Flores et al., 2011). Aún así, los valores finales de T1 pueden llegar a ser superiores como observaron Kopman et al. (2001), siendo necesario normalizar siempre al final.

La mejor opción, por lo tanto, es la monitorización mediante TOFR en la clínica ya que no requiere estabilización previa (Suzuki et al., 2006). En investigación, dónde se desean obtener los valores de recuperación basados en la T1, nuestra meta puede ser la de obtener una TOFR normalizada superior al 0,9. En este caso, podemos o no realizar la estabilización previa de la señal, aunque si debemos obtener un valor basal de TOFR. Una vez obtenido este valor, deberemos normalizar los valores de T1 que obtengamos al final del procedimiento, en este ejemplo cuando obtengamos un valor de TOFR normalizado de 0,9 y valores estables de T1 durante al menos 2 – 5 minutos (Fuchs-Buder et al., 2007).

2.2.8. BLOQUEO NEUROMUSCULAR RESIDUAL

Una falta de recuperación del bloqueo neuromuscular, cuando la TOFR <0,9, puede llevar a despertar a un paciente de la anestesia mientras aún exista cierto grado de bloqueo neuromuscular. El bloqueo muscular residual debido a la administración de bloqueantes neuromusculares es un tema reportado desde hace 35 años en la literatura (Viby-Mogensen et al., 1979). Desde entonces, varios estudios han demostrado la alta incidencia de este problema y han reafirmado la necesidad de monitorizar el bloqueo de

una forma objetiva para evitar la parálisis residual (Dabaene et al., 2003; Baillard et al., 2005; Murphy, 2006). En el estudio de Baillard et al. (2005) se observó una reducción de la incidencia de parálisis residual de un 62% a tan solo un 3% tras la aplicación de monitorización objetiva del bloqueo neuromuscular.

Los problemas asociados con la parálisis residual pueden producir una serie de efectos adversos incluyendo obstrucción de vías aéreas altas, pérdida de los reflejos de protección de la vía aérea, hipoxia postoperatoria y signos de debilidad muscular generalizada, disminuyendo las posibilidades de recuperación y aumentando la morbilidad (Berg et al., 1997; Murphy, 2006).

2.2.9. REVERSIÓN DEL BLOQUEO NEUROMUSCULAR

La reversión del bloqueo neuromuscular se basa en la aceleración de la recuperación cuando ésta se realiza mediante acción farmacológica (Jones et al., 2015).

De forma clásica, la reversión del bloqueo neuromuscular se lleva a cabo mediante fármacos que actúan inhibiendo la acetilcolinesterasa. Así, el uso de antiacetilcolinesterásicos, permite una mayor concentración de ACT en la unión neuromuscular,

desplazando la balanza a su favor, y desplazando las moléculas de bloqueante neuromuscular de los receptores nicotínicos (Clutton, 2007). Los más usados son la neostigmina, la piridostigmina y el edrofonio (Hubbell, 1992).

La acumulación de ACT debido al uso de antiacetilcolinesterásicos no se centra solo en la unión neuromuscular. Así, una vez se administran, podemos observar efectos no deseados derivados de la acción de la ACT como bradicardia, broncoespasmo, miosis, hipermotilidad intestinal y salivación. Por eso se recomienda administrar un fármaco anticolinérgico, atropina o glicopirrolato, junto con el agente antiacetilcolinesterásico (Hubbell, 1992).

Actualmente, se han desarrollado nuevos métodos de reversión. Éstos, aunque no están disponibles para todos los tipos de BNM, sí que pueden ser una buena alternativa a los antiacetilcolinesterásicos clásicos.

El sugammadex, es una ciclodextrina diseñada para encapsular el rocuronio, aunque puede usarse a su vez para revertir los efectos del vecuronio y el pancuronio. Así, a mayor número de moléculas de BNM encapsuladas, más cantidad de fármaco vuelve al torrente sanguíneo, pudiendo ser encapsulada a su vez, y finalizando el efecto del

bloqueo neuromuscular (Jones et al., 2015).

Recientemente, se está estudiando una nueva molécula, el calabadión, diseñada para encapsular otros tipos de bloqueantes neuromusculares. De momento, ha sido estudiada en ratas para revertir los efectos del CIS y el rocuronio (Hoffmann et al., 2013).

2.2.10. BLOQUEANTES NEUROMUSCULARES EN MEDICINA VETERINARIA

El uso de BNM en medicina veterinaria no está tan extendido como en medicina humana (Hubbell, 1992).

La intubación en las especies animales puede realizarse sin la necesidad de bloqueo neuromuscular. A su vez, la falta de familiarización con estos fármacos o la necesidad de equipamiento específico para un correcto uso de estos fármacos han relegado su uso a hospitales y centros de investigación (Hubbell, 1992).

Sin embargo, su uso se ha ido desarrollando e introduciendo en medicina veterinaria, siendo útiles en cirugías traumatológicas o oftalmológicas, cirugías abdominales o torácicas que necesiten de exposición de órganos profundos o en pacientes críticos como parte de una anestesia balanceada (Ilkiw, 1992) siendo de vital

importancia seguir las mismas precauciones que las mencionadas anteriormente e medicina humana.

Hay que tener en cuenta que la extrapolación de dosis de humana a veterinaria puede resultar en sobredosis (Martin-Flores et al., 2012) o falta de efecto. El primer caso es especialmente preocupante, ya que podemos incrementar el riesgo de complicaciones postoperatorias como la parálisis muscular residual (Martin-Flores et al., 2012). Es por eso que son necesarios estudios farmacológicos en las distintas especies animales.

2.3. CISATRACURIO

2.3.1. ESTRUCTURA QUÍMICA

La molécula de CIS proviene del atracurio (Figura 21), siendo un 15% aproximadamente de la mezcla racémica de los 10 estereoisómeros del atracurio (Belmont et al., 1995; Wastila et al., 1996). Su estructura química es [(1R, 1R', 2R, 2R')-2, 2'-(3,11-dioxo-4, 10-dioxatridecamethylene) bis (1, 2, 3, 4-tetrahydro-6, 7-dimethoxy-2-methyl-1-veratrylisoquinolinium) dibenzenesulfonate] (Belmont et al., 1995).

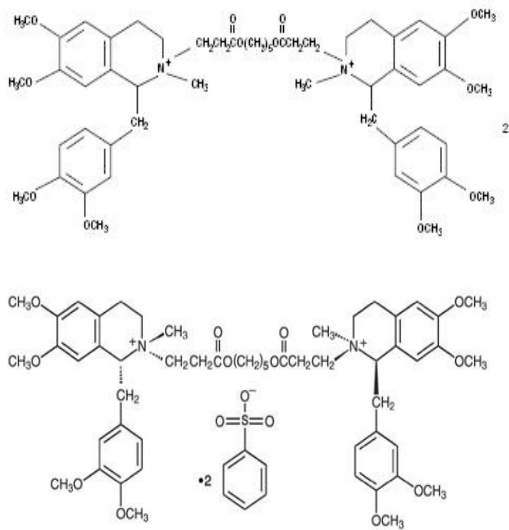


Figura 21. Estructura química del atracurio (superior) y el cisatracurio (inferior).

(Ornstein et al., 1996; Sorooshian et al., 1996) y también en pacientes con fallo renal (Boyd et al., 1996). Se han observado diferencias en el tiempo de acción según los fármacos administrados. Braga et al. (2013), observaron que el inicio de acción de 0,1 mg/kg de CIS tras la administración de propofol fue más rápido que con la administración de etomidato. De forma similar, el inicio de acción en pacientes bajo mantenimiento anestésico con isoflurano fue más rápido que en los pacientes bajo anestesia intravenosa (Ornstein et al., 1996; Sorooshian et al., 1996; De Wolf et al., 1996).

2.3.2. ESTUDIOS FARMACOCINÉTICOS Y FARMACODINÁMICOS EN MEDICINA HUMANA

FARMACODINAMIA

Inicio de acción

La administración de una dosis clínica de 0,1 mg/kg CIS, produce la abolición de la contracción muscular entre los 3,4 y los 5,8 minutos (Belmont et al., 1995; Lepage et al., 1996; Carroll et al., 1998a; Bergeron et al., 2001). Este tiempo es ligeramente superior al del atracurio a dosis equipotentes (Belmont et al., 1995; Lepage et al., 1996; Carroll et al., 1998a) debido a la mayor potencia del CIS respecto al atracurio.

El tiempo de inicio de acción tras la administración de la misma dosis se vio incrementado en pacientes geriátricos

Un aumento de las dosis de bloqueante neuromuscular conlleva a la reducción del tiempo de inicio de acción. La administración de 0,2 mg/kg de CIS redujo el tiempo de inicio de acción a 2,7 – 3,2 minutos (Belmont et al., 1995; Lepage et al., 1996) mientras que una dosis de 0,4 mg/kg lo redujo a 1,9 minutos (Belmont et al., 1995).

Recuperación del bloqueo neuromuscular

La duración clínica efectiva del CIS varía entre los 33 a 45 minutos tras la administración de 0,1 mg/kg. Esta duración es similar a la del atracurio tras una dosis equipotente (Belmont et al., 1995; Adamus et al., 2006).

Los índices de recuperación 25 – 75% tras la administración de la misma

dosis de CIS varían entre los 8 y los 13 minutos (Belmont et al., 1995; Lepage et al., 1996).

Un incremento en la dosis de CIS produce un aumento de la duración clínica efectiva (Belmont et al., 1995; Lepage et al., 1996) pero no de los índices de recuperación (Belmont et al., 1995). Por el contrario, Wulf et al. (1998), observaron que la duración clínica efectiva del CIS no se modificaba cuando se usaba isoflurano, desflurano, sevoflurano o propofol/fentanilo pero si se alargaron significativamente los índices de recuperación con el sevoflurano y el desflurano.

Efectos adversos

1. Efectos cardiovasculares y liberación de histamina

En la mayoría de pacientes no se observó liberación de histamina marcada ni cambios significativos en el sistema cardiovascular tras la administración de CIS tanto a dosis clínicas como a dosis de hasta 8 veces la ED₉₅ (Lien et al., 1995; Lepage et al., 1996). Sin embargo, en uno de los estudios observaron cambios significativos en la presión arterial y la frecuencia cardíaca tras la administración de CIS a una dosis 2 veces la ED₉₅ en dos de los 45 participantes (Lien et al., 1995)

2. Reacciones anafilácticas y reacciones anafilactoides

Como ya se ha mencionado anteriormente, la aparición de reacciones adversas de este tipo son frecuentes entre los fármacos de la familia de los BNM (Laxenaire et al., 1983; Laxenaire et al., 1996; Laxenaire et al., 1999).

El CIS, aunque es considerado un fármaco seguro, ha sido asociado también a este tipo de reacciones adversas, observándose hipotensión con taquicardia refleja, broncoespasmo y enrojecimiento de la piel (Clendenen et al., 1997; Krombach et al., 2001; Legros et al., 2001; Yoon et al., 2014).

3. Convulsiones

Si bien es cierto que la molécula de CIS no es capaz de pasar a través de la barrera hematoencefálica para producir convulsiones, si lo es la laudanosina, uno de los metabolitos producidos tras la degradación del CIS por reacción de Hofmann (Nigrovic & Fox, 1991). Esta molécula puede llegar a tener efectos convulsionantes por estimulación del sistema nervioso central en varias especies animales (Hennis et al., 1986; Chapple et al., 1987).

FARMACOCINÉTICA

1. Distribución

El volumen de distribución en el estado de equilibrio en adultos varía entre los 0,11 – 0,16 L/kg (Bryson & Faulds, 1997). Existen variaciones del volumen de distribución en pacientes geriátricos, en los que aparece un aumento de entre un 17 – 37% (Ornstein et al., 1996; Sorooshian et al., 1996). En pacientes con enfermedad hepática, el volumen de distribución se vio aumentado en un 20% (De Wolf et al., 1996).

2. Metabolismo

El CIS se degrada principalmente vía reacción de Hofmann. Esta reacción química dependiente de la temperatura y el pH da como productos de degradación una molécula de laudanosina y un acrilato monocuaternario (Welch et al., 1995). Se estima que entre un 77 – 90% del CIS se degrada por esta vía de eliminación mientras que el 10 – 23% restante, depende de eliminación renal (Kisor et al., 1996).

El acrilato monocuaternario, a su vez, es degradado por esterasas plasmáticas a alcohol monocuaternario que, vía reacción de Hofmann, acaba produciendo una molécula de laudanosina (Welch et al., 1995). La laudanosina es finalmente metabolizada vía hepática a

tetrahidropapaverina y es excretada vía renal y biliar (Chapple et al., 1987).

Las concentraciones de laudanosina en pacientes sanos tras la administración de 0,1 mg/kg de CIS fueron de 21 – 23 ng/mL (Eastwood et al., 1995; De Wolf et al., 1996). Estas concentraciones fueron mayores en pacientes con fallo renal (Eastwood et al., 1995) por lo que la vía renal se presenta como la principal vía de eliminación de este metabolito.

3. Eliminación

El aclaramiento renal del CIS varía entre 270 – 340 mL/kg/h (De Wolf et al., 1996; Lien et al., 1995; Ornstein et al., 1996; Bergeron et al., 2001). Éste se vio reducido en un 13% en pacientes con fallo renal (Eastwood et al., 1995) y aumentado en un 16% en pacientes con fallo hepático (De Wolf et al., 1996).

La semivida de eliminación del CIS varía entre los 22 y los 35 minutos (Eastwood et al., 1995; De Wolf et al., 1996; Ornstein et al., 1996; Sorooshian et al., 1996; Smith et al., 1997). En pacientes renales y en pacientes geriátricos, la semivida de eliminación se vio aumentada en 4,2 minutos (14%) y en 4 minutos (19%) respectivamente (Ornstein et al., 1996). La semivida de eliminación de la laudanosina observada fue de 3,6 a 5,2

horas (Lien et al., 1995; Bergeron et al., 2001).

2.3.3. ESTUDIOS FARMACOCINÉTICOS Y FARMACODINÁMICOS DEL CISATRACURIO EN MEDICINA VETERINARIA

Los estudios sobre CIS en medicina veterinaria se centran básicamente en las especies canina y felina.

FARMACODINAMIA

Inicio de acción

El inicio de acción del CIS se ha estudiado en gatos y en perros. Tras la administración de 0,06 mg/kg IV en la especie felina, el inicio de acción se produjo a los 3,7 minutos (Wastila et al., 1996). En la especie canina, el inicio de acción tras una dosis de 0,15 mg/kg IV fue a los 2,14 minutos. Este tiempo se redujo a 0,98 minutos cuando la dosis se aumentó a 0,6 mg/kg IV (Chen et al., 2008), de forma similar a lo observado en medicina humana. Adams et al. (2006), reportaron inicios de acción tras una dosis de 0,1 mg/kg IV de 3,1 y 3,4 minutos en perros con shunt portosistémico y animales sanos respectivamente, no observándose diferencias significativas.

Recuperación del bloqueo neuromuscular

El índice de recuperación 25 – 75% tras una dosis de 0,06 mg/kg IV en el gato fue de entre 3,8 y 4,4 minutos.

Tras la administración de una dosis 4 veces superior (0,25 mg/kg), el índice de recuperación fue de 4,5 minutos (Wastila et al., 1996). En la especie canina, los índices de recuperación fueron 5,9 minutos tras 0,15 mg/kg y 6,5 minutos tras 0,6 mg/kg (Chen et al., 2008). La duración clínica efectiva tras la administración de 0,15 mg/kg y 0,6 mg/kg en el perro fue de 21,1 minutos y 58,0 minutos respectivamente (Chen et al., 2008).

Efectos adversos

El CIS, de forma similar a lo descrito en medicina humana, no produce aumentos significativos de histamina ni alteraciones cardiovasculares importantes en la especie felina tras la administración de hasta 80 veces la ED₉₅ (Wastila et al., 1996).

En la especie canina, no se observaron cambios significativos en el sistema cardiovascular (Adams et al., 2006; Staffieri et al., 2011) a dosis clínicas. En perros afectados por distrofia muscular ligada al gen-X se vio un aumento en la presión arterial media y la frecuencia cardíaca tras la administración de 0,1 mg/kg de CIS (Staffieri et al., 2011). En otro estudio, Jurado et al. (2012) observaron un aumento de la presión arterial media y la frecuencia cardíaca tras una sobredosis de CIS en un perro.

FARMACOCINÉTICA

En la especie canina, el volumen de distribución en el estado de equilibrio fue de 0,18 L/kg (Chen et al., 2009).

El aclaramiento total en el perro es de 10,8 mL/kg/min. Éste se divide en un aclaramiento renal de 6,12 mL/kg/min y un aclaramiento por reacción de Hofmann de 4,6 mL/kg/min (Chen et al., 2009). La semivida de eliminación tras la administración de 0,15 mg/kg y 0,6 mg/kg fue 17,6 y 17,8 minutos (Chen et al., 2008).

El metabolismo del CIS por reacción de Hofmann es similar entre la especie humana y la canina, en cambio, la eliminación orgánica parece ser mayor en el perro que en la especie humana ya que el aclaramiento renal del CIS y la filtración glomerular son más rápidos en la especie canina (Chen et al., 2009).

3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.1. ELECCIÓN DE LA ESPECIE

La especie porcina es una de las más usadas en investigación biomédica al ser un modelo muy parecido a la especie humana. El cerdo es el modelo quirúrgico más usado para realizar procedimientos experimentales antes de su realización en humanos. Para asegurar el éxito de dichos procedimientos y la supervivencia de los pacientes, el procedimiento anestésico debe ser lo más cuidadoso y preciso posible, usando siempre fármacos que interfieran de la menor manera posible en la estabilidad de dichos pacientes, a las dosis establecidas para la especie y con conocimientos de los efectos que éstos puedan causar. Es por ello que la realización de estudios farmacocinéticos y farmacodinámicos en la especie porcina es de vital importancia para maximizar el éxito de todo procedimiento de investigación.

Otra razón para la elección de la especie porcina para realizar el presente estudio, ha sido la de afianzar al cerdo como modelo para el estudio farmacológico de los BNM para su posterior uso en medicina humana. Durante muchos años, se usó al gato como modelo animal para la predicción de los efectos de los BNM. En esta especie, se podían predecir de forma bastante adecuada los efectos cardiovasculares y la potencia de este

grupo de fármacos aunque no su duración (Muir & Marshall, 1987; Muir et al., 1989; Wastila et al., 1996). Muir & Marshall (1987) describieron los efectos del vecuronio, el pancuronio, el Org6368 y la SCC en la especie porcina mostrando a su concordancia en cuanto a la potencia y su duración, los efectos farmacológicos y sus efectos adversos en el sistema cardiovascular. Así, sugirieron al cerdo como modelo adicional para el estudio de los bloqueantes neuromusculares. En un estudio sobre farmacocinética del atracurio en la especie porcina, se observó que la semivida de eliminación y la duración del fármaco eran similares a los descritos en medicina humana (Schopfer et al., 1989). Aunque la potencia de este era 7 veces menor en el cerdo que en la especie humana (Pittet et al., 1990), siendo así necesarias dosis más altas de atracurio en la especie porcina (Schopfer et al., 1989).

Otros autores han sugerido al cerdo como modelo para el estudio de los BNM debido a su similitud con la especie humana (Motsch et al., 1989; Muir et al., 1989; Lu et al., 2010).

Otra ventaja del estudio de los BNM en la especie porcina es poder valorar su capacidad para producir o evitar la aparición de hipertermia maligna (Buzello et al., 1985; Morrell & Harrison, 1986; Sufit et al., 1990; Iazzo

& Wedel, 1994; Lowalekar et al., 2013; Schuster et al., 2014).

3.2. OBJETIVOS

Los objetivos de la presente tesis doctoral son los siguientes:

1. Obtener los principales valores farmacocinéticos tras la administración de un bolo único de 1 mg/kg IV de cisatracurio en la especie porcina.
2. Establecer la farmacodinamia y los efectos sistémicos tras la administración de un bolo único de 1 mg/kg IV de cisatracurio en la especie porcina.
3. Obtener los principales valores farmacocinéticos de la administración de una infusión continua de 1,2 mg/kg/h durante una hora precedida de un bolo IV de 1 mg/kg de cisatracurio en el cerdo.
4. Establecer la farmacodinamia y los efectos sistémicos de la administración de una infusión continua de 1,2 mg/kg/h durante una hora precedida de un bolo IV de 1 mg/kg de cisatracurio en la especie porcina.
5. Cuantificar la producción de laudanosina tras la administración de un bolo IV único de 1 mg/kg de cisatracurio y tras la administración de una infusión continua de 1,2 mg/kg/h durante una hora precedida de un bolo IV de 1 mg/kg de cisatracurio en el cerdo.
6. Determinar las concentraciones de cisatracurio y laudanosina en orina tras la administración de un bolo IV único de 1 mg/kg de cisatracurio y tras la administración IV de una infusión continua de 1,2 mg/kg/h durante una hora precedida de un bolo de 1 mg/kg de cisatracurio en la especie porcina.

4. ESTUDIOS

4.1. ESTUDIO PILOTO PARA TESTAR LA DOSIS INTRAVENOSA DE CISATRACURIO

4.1.1. DETERMINACIÓN DE LA DOSIS DE CISATRACURIO EN BOLO ÚNICO

Previamente a la realización de los estudios presentados, se decidió realizar un estudio piloto con el fin de determinar la dosis clínica de cisatracurio en la especie porcina capaz de producir un bloqueo neuromuscular del 100%.

Para la realización del estudio piloto, se usaron 14 cerdos de entre 26 y 48 kg. Se dividió a los animales en 7 grupos de dos cerdos por grupo. Cada grupo recibió una dosis preestablecida de CIS. Estas dosis fueron de 0,5 mg/kg, 0,7 mg/kg, 0,85 mg/kg, 1 mg/kg y 1,2 mg/kg.

Todos los animales fueron anestesiados siguiendo el mismo protocolo anestésico. La premedicación consistió en azaperona (Stresnil; Esteve) 4 mg/kg, ketamina (Ketamidor; Richter-Pharma) 8 mg/kg y morfina (Morfina 2%; B. Braun) 0,2 mg/kg intramuscular. La inducción se realizó con isoflurano (Isovet; B. Braun) al 4% en oxígeno al 100%. Se cateterizó la vena auricular y se intubó a los animales para mantener la anestesia con isoflurano al 2 – 2,5% en oxígeno al 100%.

La monitorización del bloqueo neuromuscular se realizó mediante un monitor de AMG (TOF Watch® SX, Organon Ltd, Dublin, Ireland). Todo el procedimiento farmacodinámico así como la toma de datos se realizó siguiendo las guías internacionales de buenas prácticas en la investigación farmacodinámica de los bloqueantes neuromusculares (Fuchs-Buder et al., 2007).

Para la monitorización del bloqueo neuromuscular, la extremidad anterior derecha se colocó en extensión. La piel se limpió con clorhexidina y alcohol y se frotó con un abrasivo. Los electrodos se colocaron en la cara palmar de la extremidad. El electrodo proximal se colocó 2 – 3 cm distalmente a la articulación del codo. El electrodo distal se colocó a unos 4 – 5 cm del primero. El transductor de aceleración se fijó con esparadrapo entre los dos dedos principales. El sensor de temperatura se fijó cerca del transductor de aceleración para mantener una temperatura externa de entre 34 – 37°C.

Una vez estabilizada la anestesia, se inició el monitor TOF Watch® SX. Se realizaron dos estimulaciones TOF seguidas de una estimulación tetánica. Seguidamente se calibró el monitor mediante el botón CAL. Una vez calibrado, se inició la estimulación TOF cada 15 segundos mediante el modo

TOF del monitor. Cuando se obtuvo una señal estable (desviación T1 inferior a 5% durante 2 minutos), se administró un bolo de CIS a la dosis a testar en 5 segundos a través del catéter auricular. La estimulación TOF se prosiguió cada 15 segundos hasta que la TOFR fue superior a 90% durante 2 minutos.

Para cada animal, se observó el grado de bloqueo neuromuscular. Si no se conseguía un 100% de bloqueo neuromuscular, la dosis se descartaba. La dosis de 0,85 mg/kg sólo produjo bloqueo neuromuscular completo en un animal mientras que la dosis de 1 mg/kg fue la que produjo bloqueo neuromuscular completo en los dos animales. Para asegurar la dosis correcta, se repitieron las dosis de 0,85 mg/kg y de 1 mg/kg en dos pacientes para cada dosis.

4.1.2. DETERMINACIÓN DE LA DOSIS DE CISATRACURIO EN INFUSIÓN CONTINUA

Tras la dosis en bolo único, se realizó el estudio piloto para determinar la dosis de infusión que mantuviese un bloqueo neuromuscular correcto.

Se realizó el estudio en tres animales. La anestesia y la monitorización fueron iguales que las realizadas para el estudio piloto para bolo único.

Tras la administración del bolo de CIS, se inició la infusión a 1 mg/kg/h siguiendo las tendencias de dosis usadas en medicina humana dónde la dosis de infusión es similar a la dosis del bolo previo (Boyd et al., 1996). Una vez iniciada, se fue monitorizando el bloqueo neuromuscular para mantener una depresión de T1 del 100%. Si la dosis establecida mantenía el bloqueo durante 15 minutos, ésta se disminuía 0,2 mg/kg/h durante 15 minutos más. Si la T1 empezaba a recuperarse, se aumentaba la dosis 0,2 mg/kg/h. Finalmente, la dosis establecida fue la de 1,2 mg/kg/h.

4.2. ESTUDIO FARMACOCINÉTICO TRAS LA ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE 1 mg/kg DE CISATRACURIO EN LA ESPECIE PORCINA

4.2.1. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio fue aprobado por la “Comissió d'Ètica en l'Experimentació Animal i Humana” de la Universitat Autònoma de Barcelona con los protocolos número CEEAH 2621 y DMAH 8232.

ANIMALES Y PROCEDIMIENTO

Se usaron 16 cerdos hembra de raza Landrace x Largewhite divididos en dos grupos. El grupo A incluyó ocho animales con pesos entre los 22,0 y los 33,4 kg ($26,6 \text{ kg} \pm 3,6 \text{ kg}$) y de entre 2 – 2,5 meses de edad. El grupo B incluyó ocho cerdos de entre 45,1 y 69,7 kg de peso ($57,4 \text{ kg} \pm 8,25 \text{ kg}$) con edades comprendidas entre los cuatro y cinco meses. A todos los animales se les realizó un estudio hematológico y bioquímico previo al estudio.

La premedicación consistió en azaperona (Stresnil; Esteve) 4 mg/kg, ketamina (Ketamidor; Richter-Pharma) 8 mg/kg y morfina (Morfina 2%; B. Braun) 0,2 mg/kg intramuscular. La inducción se realizó con isoflurano (Isovet; B. Braun) al 4% en oxígeno al 100%. Se cateterizó la vena auricular y se intubó a los animales para mantener

la anestesia con isoflurano al 2 – 2,5% en oxígeno al 100%. Se posicionó a los cerdos en decúbito dorsal para realizar la cateterización de la arteria poplítea con un kit arterial (Arteriofix® - B. Braun VetCare, Spain) para la obtención de muestras de sangre. Se sondó a los animales mediante sonda Foley para obtener muestras de orina durante el procedimiento. Durante la anestesia se monitorizó a los animales mediante electrocardiografía, pulsioximetría, capnografía, presión arterial invasiva y temperatura esofágica. Se usó ventilación mecánica para mantener un EtCO_2 de 35 – 45 mmHg. La temperatura interna se mantuvo a 36 – 39°C mediante manta térmica. La fluidoterapia consistió en suero salino fisiológico al 0,9% a una velocidad de 5 – 10 mL/kg/h (Figura 22).



Figura 22. Paciente monitorizado

Una vez la anestesia se estabilizó, se obtuvo una muestra de sangre de 2 mL a través del catéter arterial (Figura 23) y una muestra de 2 mL de orina. Seguidamente se procedió a vaciar la vejiga de la orina y se administró 1 mg/kg de CIS a través de la vena auricular durante 5 segundos. La dosis

de 1 mg/kg IV se obtuvo, como se ha comentado, tras el estudio piloto descrito en el apartado 4.1, dónde se testó la dosis necesaria para conseguir un bloqueo neuromuscular completo en el cerdo anestesiado. Seguidamente, se obtuvieron muestras de sangre arterial (2 mL) a los tiempos 0,5, 1, 2, 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240 minutos post inyección. A su vez, se obtuvieron muestras de orina (2 mL) a los tiempos 30, 60, 90, 120, 180, 240, 360 y 480 minutos post inyección. Tanto en las muestras de sangre como en las urinarias se analizaron los niveles de CIS y de laudanosina.



Figura 23. Catéter arterial para la obtención de muestras.

TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Las muestras de sangre se introdujeron en tubos heparinizados que fueron inmediatamente refrigerados en agua con hielo. Se centrifugaron las muestras en menos de 2 minutos tras su extracción a 3500 rpm durante 3 minutos y se transfirió 1 mL de plasma a tubos Eppendorf preacidificados con 40 μ L de H_2SO_4 0,5M para evitar la degradación del CIS. Las muestras de orina se introdujeron

en tubos Eppendorf preacidificados con 20 μ L de H_3PO_4 al 85%. Los tubos Eppendorf se congelaron de inmediato tras la centrifugación a $-20^{\circ}C$.

PROCEDIMIENTO ANALÍTICO

Químicos y reactivos

Se usaron como estándares analíticos el besilato de atracurio (Ref. Y0000424, Farmacopea Europea), la laudanosina (Ref. S425672, lote 0001568063, Sigma-Aldrich Química) y el besilato de cisatracurio (Nimbex[®]) (Ref. 677781.7H, lote 3506A/A, GlaxoSmithKline). El acetonitrilo para la Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPLC) se obtuvo de Fisher Scientific (España).

Soluciones stock

Las soluciones estándar de atracurio y laudanosina 1 mg/kg se prepararon en H_2SO_4 6,25 mM y se conservaron a $4^{\circ}C$. Estas soluciones se diluyeron a concentraciones de 0,1, 0,01, 0,001 y 0,0001 mg/mL con agua destilada cada día de análisis. Para la preparación de las soluciones estándar de Nimbex[®] (2 mg/mL de cisatracurio), éste se diluyó con agua a 1, 0,1, 0,01, 0,001 y 0,0001 mg/mL. El contenido de CIS del Nimbex[®] 1 mg/mL se comparó con el estándar de atracurio 1 mg/mL usando la HPLC. El contenido de CIS del Nimbex[®] 1 mg/mL fue de 100,4% en relación con la solución del atracurio.

Procesamiento de las muestras

Se añadieron 200 μL de muestra de plasma acidificado a tubos Eppendorf de 1,5 mL. Las soluciones estándar de laudanosina y CIS se añadieron según necesidad y se dejó reposar durante 5 minutos tras la agitación de las muestras en un vórtex durante 2 segundos. Tras este procedimiento, se añadieron 300 μL de hielo de acetonitrilo a -20°C y se agitaron en un multivórtex durante 5 minutos para facilitar la precipitación de las proteínas. Tras la precipitación, se añadieron 100 mg de NaCl sólido y se mezclaron durante 3 minutos en el multivórtex. Las muestras se centrifugaron a 14500 rpm durante 5 minutos a 4°C . La fase orgánica superior se transfirió a un vial de propileno para cromatografía, se tapó, se introdujo en el inyector automático de la HPLC y se inyectaron muestras de 10 μL en el sistema HPLC.

ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO

Los datos experimentales para concentraciones plasmáticas se trataron usando un modelo cinético no compartimental. Los cálculos de los valores se obtuvieron usando el programa PK Solutions™ 2.0.2. La inclinación de la fase de eliminación terminal se calculó mediante regresión lineal.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La descripción del promedio a lo largo del estudio de los valores farmacocinéticos se muestran como mediana y rango intercuartílico, comparando ambos grupos mediante la prueba de la U de Mann-Whitney. Los análisis estadísticos se han realizado con el programa SPSS versión 20 (IBM corporation) y se han considerado como significativos los valores de $p \leq 0,05$.

4.2.2. RESULTADOS

LÍMITES DE DETECCIÓN Y LÍMITES DE CUANTIFICACIÓN

La tabla 2 contiene los resultados de límites de detección (LD), límites de cuantificación (LC) y la ratio LD/LC para la laudanosina y el CIS. El LC se estableció en el nivel mínimo de las curvas de calibración (25 ng/mL).

Tabla 2: Límites de detección y límites de cuantificación para laudanosina y cisatracurio en plasma porcino.

	Laudanosina	Cisatracurio
LD (ng/mL)	1,9	1,8
LC (ng/mL)	25	25
Ratio LC/LD	13,2	13,6

Límite de detección (LD), límite de cuantificación (LC)

ESTUDIOS DE ESTABILIDAD

Las soluciones estándar preparadas fueron estables a 4°C durante al menos

3 meses en refrigeración sin degradación medible. La laudanosina y el CIS añadidos al plasma acidificado a concentraciones de 123 ng/mL se mantuvieron estables durante 15 días a -20°C . Tras este período, la concentración de los analitos fue inferior al 10% de la concentración inicial.

ESTUDIO FARMACOCINÉTICO

La diferencia de pesos entre el grupo A ($26,6 \text{ kg} \pm 3,6 \text{ kg}$) y el grupo B ($57,4 \text{ kg} \pm 8,25 \text{ kg}$) fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$).

Los valores de frecuencia cardíaca, presión arterial invasiva, temperatura esofágica y capnometría se mantuvieron dentro de los límites de la normalidad durante todo el procedimiento experimental.

No se detectaron niveles cuantificables de laudanosina en ninguna de las muestras sanguíneas analizadas.

Los resultados de las muestras de orina fueron muy variables y no se consideraron para su inclusión en la presente tesis doctoral.

Las concentraciones plasmáticas de CIS tras la administración de 1 mg/kg IV se presentan en la figura 24. Como se puede observar los valores plasmáticos de CIS caen de forma rápida durante los primeros 5 minutos y posteriormente la eliminación se ralentiza. En el grupo B, los niveles plasmáticos de CIS fueron detectables hasta los 90 minutos post-inyección, mientras que en el grupo A, se detectaron concentraciones medibles de CIS hasta los 180 minutos.

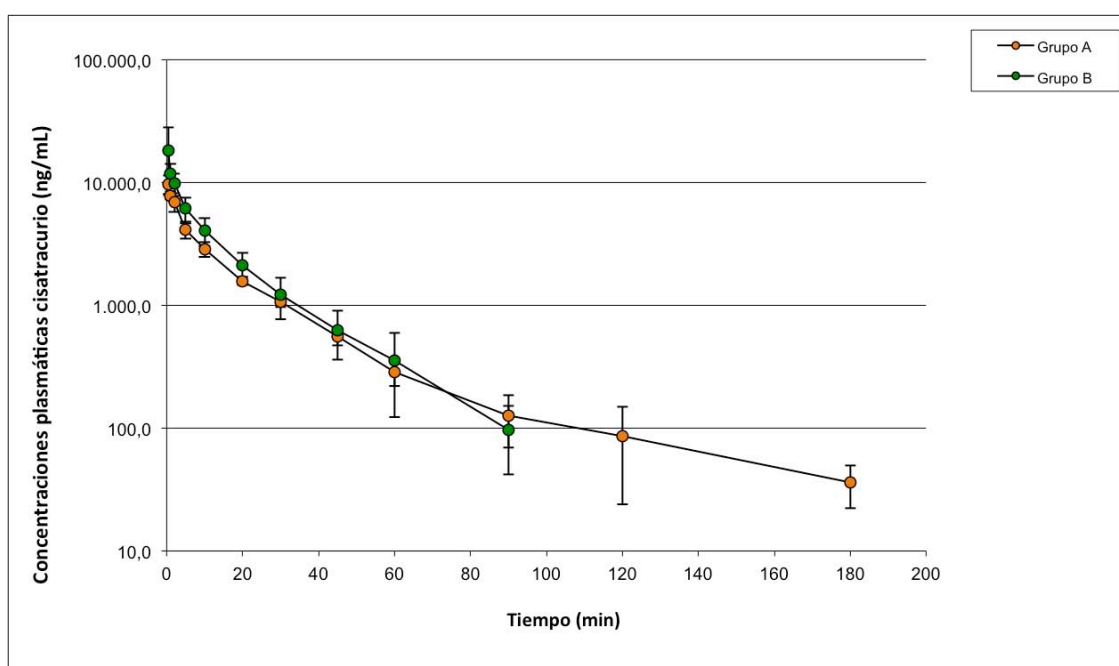


Figura 24. Media de los niveles plasmáticos de cisatracurio tras la administración de un bolo intravenoso de 1 mg/kg en ambos grupos ($n=8$ por grupo).

Los parámetros farmacocinéticos medidos para el CIS; ratio eliminación (β), semivida de eliminación ($t_{1/2\beta}$), área bajo la curva (AUC), tiempo de residencia medio (MRT), volumen de distribución (Vd) y aclaramiento total (Cl) se presentan en la tabla 3 para cada grupo de cerdos. Se pueden observar diferencias significativas para los valores de ratio de eliminación (0,027

vs. 0,054 minutos⁻¹), semivida de eliminación (25,4 vs. 12,9 minutos), tiempo de residencia media (23,8 vs. 16,4 minutos) y volumen de distribución (306,5 vs. 122,6 mL/kg) entre los grupos A y B respectivamente.

Tabla 3. Valores farmacocinéticos tras la administración de 1 mg/kg de cisatracurio intravenoso en la especie porcina (n=8 por grupo).

Grupo	(β) (1/min)	($t_{1/2\beta}$) (min)	(AUC) (mg·min/mL)	(MRT) (min)	(Vd) (mL/kg)	(Cl) (mL/min/kg)
A	0,027 [0,024 – 0,039]	25,40 [18,15 – 28,84]	116,56 [113,28 – 128,33]	23,76 [19,87 – 28,22]	306,52 [228,37 – 350,59]	8,13 [7,82 – 8,44]
B	0,054 [0,043 – 0,059]	12,94 [11,78 – 16,17]	170,28 [111,02 – 207,09]	16,44 [13,13 – 18,49]	122,62 [91,49 – 171,15]	6,02 [4,95 – 9,02]
Valor p	0,001*	0,001*	0,161	0,001*	0,001*	0,161

Los parámetros farmacocinéticos se presentan como mediana [Rango intercuartílico].

Ratio eliminación (β), semivida de eliminación ($t_{1/2\beta}$), área bajo la curva (AUC), tiempo de residencia medio (MRT), volumen de distribución (Vd) y aclaramiento total (Cl).

* Diferencias significativas entre grupos A y B ($p \leq 0,05$).

4.2.3. DISCUSIÓN

El presente estudio experimental muestra los parámetros farmacocinéticos tras la administración de un bolo intravenoso único de CIS en la especie porcina. Se evaluaron dos grupos de cerdos debido a las diferencias farmacodinámicas encontradas en el estudio piloto para

encontrar la dosis de CIS entre cerdos de diferentes edades y pesos. En dicho estudio, se observó que los cerdos de más peso tendían a recuperar antes la función neuromuscular que los cerdos de menor peso, sobretodo a dosis bajas.

Los resultados encontrados muestran la similitud entre los

parámetros farmacocinéticos del CIS y del atracurio cuando se usan dosis equipotentes en la especie porcina. La $t_{1/2\beta}$ en el grupo A fue de 25,40 minutos, el Cl fue de 8,13 mL/min/kg y el Vd de 306,52 mL/kg. Schopfer et al. (1989) encontraron resultados similares para el atracurio en cerdos de pesos entre los 23,5 y los 38 kg. La $t_{1/2\beta}$ fue de 28,6 minutos, el Cl de 8,7 mL/min/kg y un Vd de 341 mL/kg. Estos resultados también muestran la similitud entre el atracurio y el CIS, ya que el segundo se encuentra en la mezcla racémica del primero.

En el estudio presentado, la farmacocinética del CIS se calculó tras la administración de éste en dos grupos de cerdos. Los resultados muestran diferencias significativas entre el grupo A y el grupo B para la β , $t_{1/2\beta}$, MRT y Vd. Existen varios estudios que muestran la afectación de los parámetros farmacocinéticos en función de la edad. Así, hay estudios publicados que muestran las diferencias entre recién nacidos, bebés, niños y adultos (Fisher et al., 1990; Bartelink et al., 2006; Lu & Rosenbaum, 2014; Guo et al., 2015; Matalová et al., 2016). En nuestro estudio, la $t_{1/2\beta}$ fue superior en el grupo A respecto al grupo B, disminuyendo con la edad. Estos resultados concuerdan con las tendencias presentadas en revisiones de farmacocinética en niños (Bartelink et al., 2006; Lu & Rosenbaum, 2014;

Matalová et al., 2016). A su vez, nuestros resultados son comparables con los estudios de atracurio en anestesia pediátrica (Fisher et al., 1990; Fisher, 1999). En estos estudios, la $t_{1/2\beta}$ decrece a medida que incrementa la edad aunque sin diferencias estadísticamente significativas. Debemos tener en cuenta que la $t_{1/2\beta}$ se extrae del análisis de todo el perfil farmacocinético. Si tuviésemos en cuenta solo la fase inicial de eliminación, la $t_{1/2\beta}$ sería muy parecida entre grupos. En cambio, si tenemos en cuenta todo el perfil farmacocinético, el grupo A tiene una fase de eliminación terminal más prolongada que el grupo B, hecho que nos podría acentuar las diferencias entre las $t_{1/2\beta}$ de ambos grupos. La causa de las estas diferencias observadas para la fase terminal de eliminación y por lo tanto para la $t_{1/2\beta}$ entre el grupo A y B puede deberse a un aumento del Vd en el grupo A, debido al mayor contenido de agua corporal en este grupo (Shields et al., 1983). Una mayor distribución del fármaco podría explicar la mayor duración del mismo en el organismo. De forma similar, la MRT y la β son parámetros farmacocinéticos de eliminación, e indican una mayor duración del CIS en pacientes jóvenes.

Por lo que refiere al Cl, se observa que éste aumenta con la edad hasta que alcanza un máximo entre el año y los seis años de edad en humanos. A

partir de ahí, el Cl empieza a disminuir a medida que aumenta la edad (Matalová et al., 2016). Como se observa en nuestro estudio, el Cl total es superior en el grupo A, al contrario que lo mencionado por Matalová et al. (2016), aunque nuestros resultados no fueron estadísticamente significativos.

Cuando se comparan los valores farmacocinéticos del CIS en la especie porcina con los de otras especies se observa que la $t_{1/2\beta}$ en el grupo A (25,4 minutos) es similar a la encontrada en humanos (De Wolf et al., 1996; Ornstein et al., 1996; Sorooshian et al., 1996; Imbeault et al., 2006). El Cl total es más elevado en ambos grupos (8,13 mL/min/kg en el grupo A y 6,02 mL/min/kg en el grupo B) cuando se compara con pacientes humanos adultos (De Wolf et al., 1996; Kisor et al., 1996). En un estudio experimental, Chen et al. (2009) encontraron un mayor Cl en perros, cuando se comparaba con humanos (10,80 mL/min/kg vs 5,13 mL/min/kg respectivamente), con un volumen de Cl por eliminación de Hofmann similar (4,68 mL/min/kg vs 4,13 mL/min/kg) y un Cl orgánico muy superior en el perro (6,12 mL/min/kg vs 1,00 mL/min/kg). En nuestro estudio, el Cl orgánico no se midió específicamente, aunque las diferencias observadas pueden deberse a un mayor Cl orgánico en la especie porcina, de forma similar a la especie canina. El Vd del CIS en el cerdo es

pequeño, ya que éste es un fármaco hidrosoluble que no se distribuye de forma extensa a través de los distintos compartimentos. Aún así, el Vd del grupo A fue de dos a tres veces mayor que el encontrado en medicina humana (De Wolf et al., 1996; Ornstein et al., 1996; Sorooshian et al., 1996). En cambio, el grupo B mostró volúmenes de distribución más cercanos a los descritos en humanos adultos (De Wolf et al., 1996; Ornstein et al., 1996; Sorooshian et al., 1996). Los resultados obtenidos en la comparación entre cerdo y humana para el CIS son similares a los obtenidos por Schopfer et al. (1989) para el atracurio. A su vez, Imbeault et al. (2006) encontraron, en niños, valores farmacocinéticos intermedios a los encontrados en los grupos A y B.

Los resultados obtenidos confirman las tendencias sobre la evolución de los parámetros farmacocinéticos con la edad que aparecen en las guías publicadas (Bartelink et al., 2006; Lu & Rosenbaum, 2014; Matalová et al., 2016). Como se puede observar, los valores de $t_{1/2\beta}$ en cerdos de 2 – 2,5 meses de edad (Grupo A) son muy parecidos a los obtenidos en medicina humana. En cambio, el grupo B, tiene valores más parecidos a los obtenidos en pacientes adultos en cuanto a Vd y Cl. En el caso de los niños, se observaron valores que se encuentran entre los grupos A y B.

Finalmente, se intentaron medir las concentraciones plasmáticas de laudanosina tras la administración de CIS. En ningún caso se observó laudanosina en las muestras procesadas. Tras la administración de CIS, la producción de laudanosina debería ser inferior que con la administración de atracurio, ya que la dosis de CIS necesaria para conseguir un mismo grado de bloqueo neuromuscular es inferior que en el caso del atracurio (Boyd et al., 1996). Eastwood et al. (1995), encontraron concentraciones de laudanosina entre 200 y 300 ng/mL tras la administración de 0,5 mg/kg de atracurio en medicina humana, mientras que 0,1 mg/kg de CIS produjo concentraciones plasmáticas de laudanosina diez veces inferiores.

En nuestro estudio no se pudo detectar laudanosina en ninguna de las muestras aunque nuestro límite de detección fue de 1,9 ng/mL. Estos resultados sugieren que, cuando se administra un bolo de 1 mg/kg IV de CIS en la especie porcina, las concentraciones plasmáticas de laudanosina están por debajo del límite descrito. A su vez, estos resultados nos indican que la producción de laudanosina en la especie porcina tras la administración de CIS es inferior a la producida en medicina humana y claramente inferior a la producida tras la administración de atracurio (Schopfer & Benakis, 1990; Eastwood et

al., 1995). En ratas se producen unas concentraciones de laudanosina inferiores a las humanas, aunque la dosis de CIS en esta especie es diez veces superior a la descrita en humanos (Welch et al., 1995). Estos resultados se explican por el metabolismo totalmente distinto del CIS en las ratas. En éstas, la mayor parte del CIS se hidroliza por acción de enzimas carboxilasas. Esta vía de metabolismo produce como productos un alcohol monocuaternario y un ácido monocuaternario, con concentraciones muy pequeñas de laudanosina. Nuestros resultados, por su parte, muestran una tendencia similar en la especie porcina. Es posible que en el cerdo, el metabolismo del CIS sea distinto al humano, y éste se metabolice por actividad esterásica, dejando a la reacción de Hofmann en un segundo lugar. A su vez, también existe la posibilidad de que el CIS se excrete sin alteraciones por orina o por bilis, en una fracción superior a la de los humanos, exponiendo otra vía de eliminación. En perros, por ejemplo, el Cl renal es muy superior al de los humanos (Chen et al., 2009). Un metabolismo distinto nos podría explicar el porqué la especie porcina parece ser más resistente que otras especies a los BNM, aunque se requieren estudios más específicos para poder entender de forma completa el metabolismo y la

eliminación del CIS en la especie porcina.

Los resultados obtenidos tras el análisis de las concentraciones de CIS en orina fueron muy variables entre todos los animales incluidos en el presente estudio. Esta variabilidad, probablemente, viene dada por el método de recolección de la orina. Según opinión del autor, es posible que durante el vaciado de la vejiga tras la extracción de la muestra inicial, no se consiguiera un vaciado total de ésta o bien que, aún teniendo la sonda colocada, ésta no fuese suficiente para evitar la micción espontánea, llevando a volúmenes de orina inferiores a los reales e impidiendo el cálculo exacto de los niveles de CIS. EN el caso de la laudanosina, no se observaron concentraciones medibles en ninguna de las muestras de orina.

4.3. ESTUDIO FARMACODINÁMICO TRAS LA ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE 1 mg/kg DE CISATRACURIO EN LA ESPECIE PORCINA

4.3.1 MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio fue aprobado por la “Comissió d'Ètica en l'Experimentació Animal i Humana” de la Universitat Autònoma de Barcelona con los protocolos número CEEAH 2621 y DMAH 8232.

ANIMALES Y PROCEDIMIENTO

Los animales utilizados así como el procedimiento anestésico fueron los mismos que para el estudio 4.2.

MONITORIZACIÓN ANESTÉSICA

Una vez anestesiados, se posicionó a los cerdos en decúbito dorsal para realizar la cateterización de la arteria poplítea con un kit arterial (Arteriofix® - B. Braun VetCare, Spain) para la obtención de muestras de sangre y el posterior análisis de gases arteriales así como el control de los parámetros cardiovasculares. Durante todo el procedimiento anestésico se monitorizó a los animales constantemente mediante electrocardiografía, pulsioximetría, capnografía, presión arterial invasiva y temperatura esofágica anotando los parámetros cada 10 minutos.

Previamente a la administración del CIS se estableció un período de treinta minutos para obtener tres medidas basales (tiempos -30 a -10). La administración del CIS se realizó en el tiempo 0. Seguidamente, se monitorizó a los animales durante 240 minutos hasta el final del procedimiento. Se usó ventilación mecánica para mantener un EtCO₂ de 35 – 45 mmHg. La temperatura interna se mantuvo entre los 36 – 39°C mediante manta térmica. La fluidoterapia consistió en suero salino fisiológico al 0,9% a una velocidad de 5 – 10 mL/kg/h (Figura 22).

MONITORIZACIÓN DEL BLOQUEO NEUROMUSCULAR

La monitorización del bloqueo neuromuscular se realizó mediante un monitor de AMG (TOF Watch® SX, Organon Ltd, Dublin, Ireland). Todo el procedimiento farmacodinámico así como la recolección de datos se realizó siguiendo las guías internacionales de buenas prácticas en la investigación farmacodinámica para bloqueantes neuromusculares (Fuchs-Buder et al., 2007).

La extremidad anterior derecha se colocó en extensión. La piel se limpió con clorhexidina y alcohol y se frotó con un abrasivo. Los electrodos se colocaron en la cara palmar de la extremidad. El electrodo proximal se colocó a 2 – 3 cm distalmente a la

articulación del codo. El electrodo distal se colocó a unos 4 – 5 cm del primero. El transductor de aceleración se fijó con esparadrapo entre los dos dedos principales. El sensor de temperatura se fijó cerca del transductor de aceleración para mantener una temperatura externa de entre 34 – 37°C (Figura 25).

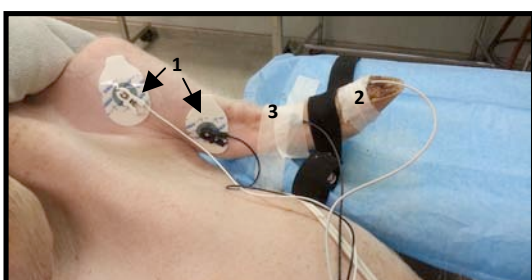


Figura 25. Colocación de los electrodos (1), sensor de aceleración (2) y sensor de temperatura (3).

seguidas de una estimulación tetánica. Seguidamente se calibró el monitor mediante el botón CAL (Figura 26). Una vez calibrado, se inició la estimulación TOF cada 15 segundos mediante el modo TOF del monitor. Cuando se obtuvo una señal estable (desviación T1 inferior a 5% durante 2 minutos), se administró un bolo de CIS de 1 mg/kg en 5 segundos a través del catéter auricular. La dosis administrada se obtuvo en un estudio piloto dónde se buscó la dosis necesaria para conseguir un buen bloqueo neuromuscular completo en el cerdo anestesiado (estudio 4.1.1). La estimulación TOF se prosiguió cada 15 segundos hasta que la TOFR fue superior a 90% durante 2 minutos.

Una vez estabilizada la anestesia, se inició el monitor TOF Watch® SX. Se realizaron dos estimulaciones TOF

Time	Mode	Tw1	Tw2	Tw3	Tw4	TOF	CNT	Temp	Stim	CAL [Curr.]	Comments
		%	%	%	%	%		°C	mA	- [mA]	
22/01/2016											
10:01:32	TOF - single	>160	>160	>160	>160	--		33,8	50,00		
10:01:47	TOF	>160	>160	>160	>160	--		33,8	50,00		
10:01:55	TET 50Hz							33,8	50,00		
10:03:14	CAL2							33,9	44,00	2 [40]	CAL2
10:03:27	TOF	101	100	103	103	102		34,0	44,00	2 [40]	
10:03:42	TOF	101	102	103	104	103		34,1	44,00	2 [40]	
10:03:57	TOF	102	102	102	104	102		34,2	44,00	2 [40]	
10:04:12	TOF	102	102	104	104	102		34,3	44,00	2 [40]	

Figura 26. Imagen del software para TOF-Watch® SX dónde se observa el momento de la calibración (marca rectangular).

INFORMACIÓN NEUROMUSCULAR

Los datos obtenidos del monitor TOF -Watch® SX se resumen en la tabla 4.

Tabla 4. Valores farmacodinámicos para la monitorización neuromuscular.

Datos	Definición
Bloqueo máximo	Porcentaje máximo de depresión de T1 tras el inicio de la administración
Tiempo inicio	Tiempo desde el la administración hasta la máxima depresión de la primera de tres T1 consecutivas con igual o mayor amplitud
Tiempo a T1 5%	Tiempo desde el inicio de la administración hasta la recuperación del 5% del valor de T1 basal (T_b)
Tiempo a T1 25%	Tiempo desde el inicio de la administración hasta la recuperación del 25% del valor de T_b – Duración clínica efectiva
Tiempo a T1 50%	Tiempo desde el inicio de la administración hasta la recuperación del 50% del valor de T_b
Tiempo a T1 75%	Tiempo desde el inicio de la administración hasta la recuperación del 75% del valor de T_b
Tiempo a TOFR 90%	Tiempo desde la administración hasta la aparición de la primera de tres TOFR > 90% consecutivas
Tiempo a T1 25 a 75%	Tiempo desde la T1 del 25% hasta la T1 del 75% de la T_b – Índice de recuperación

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La descripción a lo largo del estudio del promedio de temperatura esofágica y periférica, la capnometría y presión arterial de CO_2 y los valores de pH se muestran como mediana y rango intercuartílico, comparando ambos grupos mediante la prueba de la U de Mann-Whitney. El análisis inferencial de la evaluación de los parámetros dinámicos estudiados se obtuvieron mediante modelos “Generalized Estimated Equations” (GEE) empleando una matriz de correlación intra-sujeto del tipo ‘unstructured’, en el modelo se

ha incluido el grupo de estudio, el tiempo de observación, la interacción del grupo por tiempo con el fin de obtener las estimaciones en las que basar la inferencia y el peso del sujeto como covariable. Los análisis estadísticos se han realizado con el programa SPSS versión 20 (IBM corporation) y se han considerado como significativos los valores de $p \leq 0,05$.

4.3.2. RESULTADOS

Los pesos entre el grupo A (26,6 kg \pm 3,6 kg) y el grupo B (57,4 kg \pm 8,25 kg) fueron estadísticamente significativos.

EFFECTOS CARDIOVASCULARES Y RESPIRATORIOS

La temperatura esofágica y periférica, la capnometría, la PaCO₂ y los valores de pH se mantuvieron constantes y dentro de valores considerados como normales durante todo el procedimiento (tabla 5). No se observaron diferencias significativas entre los grupos A y B.

Tabla 5. Valores de pH, temperatura central y periférica, EtCO₂ y PaCO₂ durante la monitorización anestésica tras la administración de un bolo IV de cisatracurio de 1 mg/kg en la especie porcina (n=8).

Grupo	pH	Tª Central (°C)	Tª Periférica (°C)	EtCO ₂ (mmHg)	PaCO ₂ (mmHg)
A	7,43 [7,42 – 7,44]	37,18 [36,96 – 38,13]	35,36 [34,31 – 36,41]	41,86 [40,25 – 34,49]	49,15 [46,40 – 50,32]
B	7,44 [7,42 – 7,49]	37,07 [36,94 – 37,33]	35,37 [34,40 – 36,20]	39,37 [37,72 – 44,00]	47,22 [43,14 – 39,62]
Valor p	0,328	0,382	0,959	0,234	0,442

Los parámetros se presentan como mediana [Rango intercuartílico]

Para el estudio de los efectos del CIS, se compararon los valores hemodinámicos tras la administración del fármaco con el promedio de los valores basales (-30 al -10).

Tras la administración del CIS en el grupo A, se observaron diferencias significativas en la frecuencia cardíaca (FC) desde los minutos 5 al 15 y del 65 al 240 respecto a los valores basales. La presión arterial sistólica (PAS) aumentó significativamente en los minutos 5 y

20, del 50 al 60, del 85 al 190 y durante el final del experimento, en los minutos 230 y 240. La presión arterial media (PAM) aumentó en los minutos 5 y 10, 20, 35 – 90, 110, 150 – 160. La presión arterial diastólica (PAD) aumentó en los tiempos 5, 10 y del minuto 20 al 110 así como en los minutos 150 y 160. En el grupo B, la administración del fármaco produjo un aumento significativo de la FC durante todo el procedimiento a partir del minuto 5. La PAS aumentó en el minuto 5 y se mantuvo elevada hasta

el minuto 55. La PAM aumentó entre los minutos 5 y 60. La PAD mostró aumentos desde el minuto 5 hasta el 45. A su vez, hubo una disminución significativa en los minutos 200 y 240.

Comparando los grupos A y B, se observa que los valores basales no fueron estadísticamente diferentes entre grupos. En cuanto a los valores postadministración, no se observaron diferencias significativas entre grupos en la frecuencia cardíaca. En cambio, la presión arterial sistólica, mostró diferencias significativas en los tiempos 10, 15, 25, 30, 35 y 40 minutos. La presión arterial diastólica mostró diferencias significativas en los tiempos 5 a 40 minutos.

Las figuras 27 y 28 muestran la evolución de los parámetros hemodinámicos antes (tiempos -30 a -10 minutos) y después de la administración de CIS (tiempos 5 a 240 minutos) en los grupos A y B respectivamente. El CIS fue administrado en el tiempo 0.

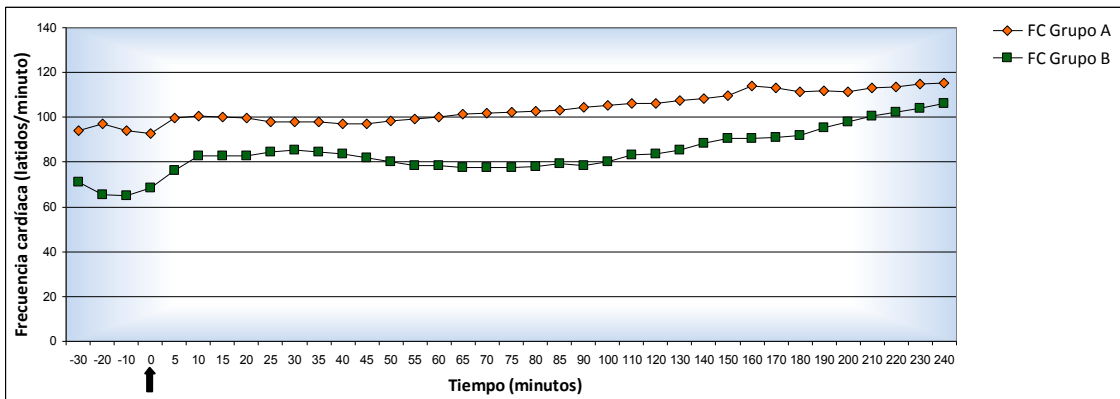


Figura 27. Valores medios de frecuencia cardíaca (FC) antes y después de la administración IV de un bolo de 1 mg/kg de cisatracurio en el cerdo (n=8 por grupo). La flecha marca el momento de la administración del fármaco.

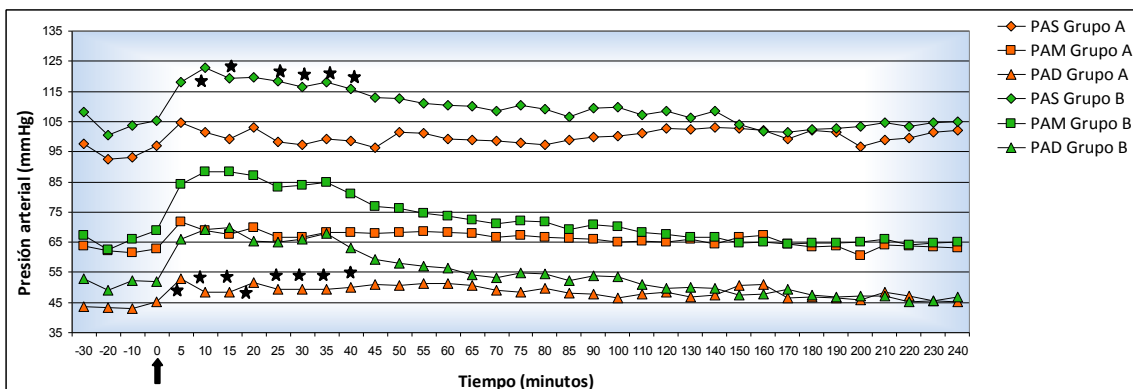


Figura 28. Valores medios de presión arterial invasiva; presión arterial sistólica (PAS), media (PAM) y diastólica (PAD) antes y después de la administración IV de un bolo de 1 mg/kg de cisatracurio en el cerdo (n=8 por grupo). La flecha marca el momento de la administración del fármaco.

★ Valores cardiovasculares significativamente diferentes entre los grupos A y B ($p \leq 0,05$).

BLOQUEO NEUROMUSCULAR

Dos cerdos del grupo A y un cerdo del grupo B se excluyeron del análisis farmacodinámico a causa de un registro incompleto de datos. A su vez, en el análisis del tiempo de inicio de acción, se excluyeron dos cerdos del grupo B por falta de bloqueo neuromuscular completo.

Se consiguió obtener un bloqueo neuromuscular completo (100%

de depresión de T1) en todos los cerdos del grupo A. En el grupo B, se obtuvo un bloqueo neuromuscular completo en cinco de los siete cerdos. El tiempo de inicio de acción fue inferior en el grupo A respecto al grupo B. La duración clínica efectiva (tiempo de T1 a alcanzar el 25%), tiempo de T1 al 5%, 50% y 75% del valor control, tiempos a TOFR > 90% y los índices de recuperación 25 – 75% fueron similares entre grupos (Tabla 6).

Tabla 6. Valores farmacodinámicos tras la administración IV de 1 mg/kg de cisatracurio en la especie porcina.

	Grupo A (n=6)	Grupo B (n= 7)	Valor p
Bloqueo máximo (%)	100 [100 – 100]	100 [97 – 100]	0,234
Tiempo de inicio (minutos)	1,08 [0,77 – 1,62]	1,67 [1,23 – 2,38] ¹	0,030*
Tiempo de T1 al 5% (minutos)	18,93 [15,83 – 24,77]	20,17 [19,38 – 27,48]	0,955
Tiempo de T1 al 25% (minutos) – Duración clínica efectiva	27,18 [20,40 – 31,83]	25,67 [32,63 – 32,85]	0,613
Tiempo de T1 al 50% (minutos)	30,78 [23,47 – 37,27]	29,92 [27,63 – 36,62]	0,536
Tiempo de T1 al 75% (minutos)	35,40 [26,90 – 43,75]	36,42 [30,65 – 41,98]	0,945
Tiempo de TOFR > 90% (minutos)	51,80 [41,28 – 81,02]	62,95 [50,93 – 66,68]	0,779
Tiempo de T1 del 25 - 75% (minutos) – Índice de recuperación	8,38 [6,62 – 10,68]	8,25 [7,00 – 10,38]	0,731

Los parámetros se presentan como mediana [Rango intercuartílico]

* Diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$).

¹ n=5

4.3.3. DISCUSIÓN

El presente estudio muestra los resultados farmacodinámicos de un bolo único de 1 mg/kg de CIS en la

especie porcina, así como sus efectos cardiovasculares.

Según conocimiento del autor, éste es el primer estudio en que se ha evaluado la farmacodinamia de una

dosis clínica de CIS en la especie porcina.

Shorten & Gibbs (1993) encontraron que la ED₉₅ del atracurio en la especie porcina era de $1,15 \pm 0,27$ mg/kg. Siguiendo estos resultados, otros autores determinaron la que la dosis clínica efectiva en el cerdo era de 2 mg/kg (Schopfer et al., 1989; Pittet et al., 1990). Aún así, en la literatura se han usado distintas dosis a las descritas anteriormente (Morrell & Harrison, 1986; Weiskopf et al., 1990; Greene et al., 2004). En la especie porcina no existían estudios en los que se evaluara la farmacocinética del CIS, por lo que, en los estudios en los que se ha empleado, las dosis varían entre los 0,2 mg/kg y los 15 mg/kg (Goebel et al., 2008; Sereinigg et al., 2012; Lowalekar et al., 2013). En el estudio piloto descrito en el apartado 4.1, se testaron distintas dosis de CIS en la especie porcina, sin obtener un bloqueo neuromuscular completo a las dosis de 0,5, 0,7 y 0,85 mg/kg intravenoso de CIS en todos los animales. Éste se obtuvo a 1 mg/kg intravenoso de CIS por lo que fue la dosis empleada en el presente estudio.

La amplia variedad de dosis usadas en los distintos estudios hace difícil comparar los efectos y la farmacodinamia entre el atracurio y el CIS en la especie porcina. Esto destaca la importancia de establecer dosis

clínicas efectivas para poder comparar distintos estudios y evitar sobredosis o efectos adversos por usar dosis más altas de las necesarias.

El presente estudio se realizó con dos grupos de cerdos con distinto peso y edad. La decisión de usar dos grupos se basó en los resultados del estudio piloto 4.1, en el que se observaron diferencias entre los cerdos dependiendo del peso. Los cerdos con pesos mayores de 40 kg, presentaron recuperaciones más rápidas que los cerdos de menos de 30 kg. Estos resultados no se corresponden con los obtenidos en el presente estudio, ya que no se observaron cambios significativos en los parámetros farmacodinámicos entre los dos grupos exceptuando el tiempo de inicio de acción. En el estudio, dos de los siete cerdos incluidos en el grupo B no llegaron a tener un bloqueo neuromuscular del 100%, manteniendo siempre cierto grado de función neuromuscular, aunque mantuvieron depresiones de T1 superiores al 95%. Aunque no fueron diferencias significativas, si que puede indicar que en animales mayores de 4 meses de edad, la dosis de 1 mg/kg IV puede no ser suficiente si se requiere un bloqueo neuromuscular del 100%. Esta variación, puede, a su vez, ser debida a variaciones individuales ya que estos fármacos responden de forma muy distinta entre individuos (Ruiz, 2001;

Clutton, 2007). Sería necesario aumentar el número de animales para poder discernir el porqué de estas variaciones. En cuanto a los tiempos de inicio de acción, éstos fueron de 1,08 minutos en el grupo A y de 1,67 minutos en el grupo B. Esta diferencia puede explicarse por la mayor frecuencia cardíaca en el grupo A, llevando a una disminución del tiempo de circulación sanguínea y un aumento del tiempo de llegada del fármaco al sitio de acción (Guo et al., 2015). Debemos considerar pero, que esta diferencia, aunque significativa estadísticamente, clínicamente no tiene un gran impacto a la hora de usar el CIS como BNM en la especie porcina.

En el presente estudio, el tiempo de inicio de acción en ambos grupos fue inferior a 2 minutos. En varios estudios realizados en medicina humana, tras la administración de 0,1 mg/kg de CIS, el tiempo de inicio de acción varió entre los 2,7 y los 5,8 minutos (Belmont et al., 1995; Lepage et al., 1996; Sorooshian et al., 1996; Smith et al., 1997; Carroll et al., 1998a; Carroll et al., 1998b). Las diferencias encontradas entre la especie porcina y las otras especies descritas pueden venir dadas por la mayor dosis usada en cerdos, ya que el tiempo de inicio de acción es indirectamente proporcional a la dosis de BNM administrada (Wastila et al., 1996). Este fenómeno se encuentra bien descrito por Belmont et al. (1995),

quienes observaron que el aumento de 0,1 mg/kg a 0,4 mg/kg disminuía el tiempo de inicio de acción de 5,2 minutos a 1,9 minutos respectivamente. En perros, también se ha observado esta tendencia. El tiempo de inicio de acción tras la administración de 0,15 mg/kg de CIS fue de $2,14 \pm 0,48$ minutos disminuyendo a $0,98 \pm 0,17$ minutos tras la administración de 0,6 mg/kg de CIS (Chen et al., 2008).

La duración clínica efectiva (tiempo para que T1 alcance el 25% de su valor basal) y el índice de recuperación (tiempo entre la recuperación de T1 al 25 y al 75% de su valor basal) son dos de los parámetros farmacodinámicos más usados en la comparación de BNM. La duración clínica efectiva en el presente estudio fue de 27,18 y 25,67 minutos para los grupos A y B respectivamente. Cuando comparamos este parámetro con los estudios realizados en humanos adultos, encontramos una gran variabilidad en los tiempos descritos. Lepage et al. (1996) observaron que la duración clínica efectiva del cisatracurio en medicina humana fue de 33 minutos de media, con una gran variabilidad entre los 22 y los 50 minutos en pacientes bajo anestesia con N₂O y fentanilo o tiopental monitorizados con MMG. Otros estudios mostraron duraciones clínicas efectivas de entre 41 y 48 minutos en pacientes adultos bajo

distintos protocolos anestésicos y usando distinta monitorización (Belmont et al., 1995; Carroll et al., 1998a, Carroll et al., 1998b; Adamus et al., 2006). Guo et al. (2015) encontraron diferencias entre los efectos del CIS a diferentes edades, siendo de 34,88 minutos en adultos, 26,05 minutos en pacientes jóvenes y de 34,63 minutos en niños mantenidos con propofol, midazolam y fentanilo monitorizados mediante AMG. Otro estudio en niños anestesiados con N₂O y propofol observó una duración clínica efectiva de 37,6 minutos (Imbeault et al., 2006). Solo los pacientes jóvenes del estudio de Guo et al. (2015) mostraron resultados muy similares a los nuestros, aunque los resultados generales en otros estudios fueron parecidos a los que aquí se presentan. En perros, la duración clínica efectiva del CIS encontrada fue de 21,1 minutos, inferior a la encontrada en nuestro estudio (Chen et al., 2008).

Por lo que se refiere a los índices de recuperación, en el grupo A éstos fueron de 8,38 minutos y de 8,25 minutos en el grupo B. Estos resultados son muy parecidos a los encontrados por Lepage et al. (1996) en pacientes adultos. A su vez, son inferiores a los índices de recuperación de otros estudios en medicina humana que variaron entre los 11 y los 16 minutos (Belmont et al., 1995; Carroll et al., 1998b; Adamus et al., 2006; Imbeault

et al., 2006; Guo et al., 2015). En perros, los índices de recuperación encontrados fueron de 5,9 minutos cuando se administró 0,15 mg/kg (3 veces la ED₉₈) de CIS (Chen et al., 2008). Estos tiempos fueron igualmente menores que los encontrados en nuestro estudio. En gatos, las diferencias son aún mayores. Los índices de recuperación del estudio en gatos fueron de 4,5 minutos tras la administración de 0,25 mg/kg (4 veces la ED₉₈) de CIS (Wastila et al., 1996).

Cuando queremos comparar la farmacodinamia en estudios sobre BNM, debemos tener en cuenta que los protocolos anestésicos, los sitios de monitorización y los monitores usados deben estar bien definidos ya que son de vital importancia para interpretar los resultados obtenidos. En la mayoría de los estudios realizados en medicina humana, la anestesia se mantiene mediante agentes inyectables y N₂O, mientras que en el presente estudio en cerdos, la anestesia se mantuvo con isoflurano. Los agentes inhalatorios aumentan la potencia de los BNM (Wulf et al., 1998) y pueden jugar un papel importante en la variabilidad observada entre estudios. A su vez, los lugares de monitorización (Kirov et al., 2004) o los distintos monitores usados como la MMG o la EMG (Fuchs-Buder et al., 2009; Sakai et al., 2015) también tienen importancia para valorar los resultados. La AMG, por ejemplo, se

correlaciona bien con la MMG y la EMG, aunque no pueden usarse de forma intercambiable (Fuchs-Buder et al., 2009). Es por esto que, las comparaciones entre estudios de farmacodinamia sobre BNM en donde se usen monitores distintos, sitios de monitorización diferentes o protocolos anestésicos variados deben hacerse con cautela. Esto resalta la importancia de seguir las guías internacionales de buenas prácticas en la investigación farmacodinámica para bloqueantes neuromusculares (Fuchs-Buder et al., 2007) y evitar así añadir una dificultad adicional a la hora de realizar y comparar estudios.

Las temperaturas esofágica y periférica, pH, EtCO₂ y PaCO₂ no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos durante todo el procedimiento anestésico, tanto en la frecuencia cardíaca como en la presión arterial, el grupo A mostró aumentos significativos en todos ellos tras la administración del CIS con respecto a los valores basales. Se pueden diferenciar dos fases de cambios en los parámetros cardiovasculares. La primera fase se produjo tras la administración del CIS, durante los primeros veinte minutos aproximadamente, donde se observa un ligero aumento de los valores hemodinámicos. La segunda fase aparece a partir del minuto 65 en la FC, del minuto 50 en la PAS y a partir del

minuto 30 y 35 en la PAD y PAM respectivamente. En el grupo B, observamos una sola fase de aumento de presiones arteriales tras la administración del CIS hasta los minutos 45 al 60 aproximadamente. La frecuencia cardíaca, fue significativamente distinta durante todo el procedimiento, aunque aumentó al minuto 5 hasta el 40, disminuyó ligeramente y luego continuó aumentando del minuto 90 hasta el final del experimento.

En la literatura, se han reportado, de forma ocasional, aumentos en la presión arterial y la frecuencia cardíaca tras la administración de CIS. Jurado et al. (2012) encontraron un aumento de la FC y PAM en un perro tras una sobredosis de CIS. Lien et al. (1995) observaron un caso que sufrió un aumento de la PAM y de la FC tras la administración de dos veces la ED₉₅ a los tres minutos de la administración del fármaco. Finalmente, Staffieri et al. (2011) reportaron aumentos de la presión arterial y la frecuencia cardíaca en perros afectados por una distrofia muscular asociada al gen X.

El CIS tiene efectos antagónicos sobre los receptores muscarínicos M2 (Sanches-Bornia et al., 2009; Staffieri et al., 2011). Estos efectos sobre los receptores M2 pueden resultar en aumentos de la frecuencia cardíaca y la presión arterial si se administran altas

dosis de CIS (Jurado et al., 2012). En nuestro caso, se usaron altas dosis de CIS para conseguir un bloqueo neuromuscular completo en la especie porcina. Estas altas dosis incrementan las posibilidades de que el CIS actúe sobre los receptores M2 y acabe afectando a los valores hemodinámicos. La afectación de estos receptores podría ser la causa del aumento en las variables cardiovasculares observadas en nuestros pacientes tras la administración del CIS, los primeros 20 minutos en el grupo A y los efectos observados en el grupo B.

Durante cualquier procedimiento anestésico, se pueden observar aumentos en la frecuencia cardíaca y la presión arterial durante la disminución de la profundidad anestésica, la presencia de estímulos nociceptivos, hipoxemia, hipercapnia, hipotensión o tras la administración de ciertos fármacos. En ninguno de los grupos, se produjeron estímulos nociceptivos y los parámetros anestésicos se mantuvieron dentro de los límites normales para la especie. A su vez, los efectos clínicos del CIS duraron menos de 60 minutos, así que difícilmente el CIS pueda explicar los efectos tardíos en los parámetros hemodinámicos. Por lo tanto, el aumento tardío de la frecuencia cardíaca en ambos grupos podría deberse a la disminución del efecto de los fármacos administrados

durante la premedicación, como por ejemplo, la morfina, ya que ésta aumenta el tono vagal, disminuyendo la frecuencia cardíaca. En cuanto a la presión arterial, solo el grupo A mostró diferencias significativas con respecto a los valores basales en la presión arterial a partir del minuto 30. Este aumento podría ser debido a un mayor efecto de la fluidoterapia, al aumento de la frecuencia cardíaca o a diferencias fisiológicas en el grupo A, aunque las variaciones no fueron constantes durante todo el procedimiento. Estos incrementos en las presiones arteriales y en la frecuencia cardíaca se mantuvieron dentro de los límites normales y no se consideraron clínicamente importantes, ya que su aumento no supuso ningún riesgo para el paciente.

No se observaron signos de liberación de histamina tras la administración de CIS en la especie porcina. Los signos de liberación de histamina incluyen hipotensión con un aumento de la frecuencia cardíaca (Lien et al., 1995; Wastila et al., 1996), así como eritema y broncoespasmo (Naguib et al., 1995b; Lepage et al., 1996). Estos resultados concuerdan con otros estudios realizados (Lien et al., 1995; Lepage et al., 1996; Wastila et al., 1996). Aún así, se deberían haber medido las concentraciones de histamina para confirmar estos resultados.

Durante la comparación de las variaciones hemodinámicas entre ambos grupos, el grupo B mostró un mayor aumento, estadísticamente significativo, en la PAS aproximadamente a los 10 minutos de la administración del CIS hasta los 30 minutos postadministración. A su vez, se observó un aumento significativo de la PAD de los 5 a los 40 minutos. Las diferencias encontradas implican que la edad y el peso de los animales tienen un efecto claro sobre la afectación de las variables hemodinámicas en la especie porcina tras la administración del CIS. Aún así, las diferencias observadas entre grupos son difíciles de clarificar. En la opinión del autor, factores fisiológicos relacionados con la edad, metabolismo farmacológico o diferencias en los receptores muscarínicos podrían explicar las variaciones observadas aunque se deben realizar más estudios para poder llegar a entender las diferencias descritas.

4.4. ESTUDIO FARMACOCINÉTICO TRAS LA ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE 1 mg/kg SEGUIDA POR LA INFUSIÓN CONTINUA DE 1,2 mg/kg/h DE CISATRACURIO EN LA ESPECIE PORCINA

4.4.1. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio experimental fue aprobado por la “Comissió d’Ètica en l’Experimentació Animal i Humana” de la Universitat Autònoma de Barcelona con los protocolos número CEEAH 2621 y DMAH 8232.

ANIMALES Y PROCEDIMIENTO

Se usaron ocho cerdos hembra de raza Landrace x Largewhite de entre 30,9 y 44 kg de peso ($37,2 \text{ kg} \pm 4,3 \text{ kg}$) y de 2,5 a 4 meses de edad. Antes de la anestesia se les realizó un perfil bioquímico completo y un hemograma de control.

El procedimiento anestésico y la monitorización de los pacientes en el presente estudio fue el mismo que el empleado en el estudio 4.2.

Una vez la anestesia fue estable, se obtuvo una muestra de sangre arterial de 2 mL. Seguidamente, se administró 1 mg/kg de cisatracurio (Nimbex®; GlaxoSmithKline) a través del catéter auricular en 5 segundos seguido de una infusión de 1,2 mg/kg/h de CIS

mediante bomba de infusión (Bomba Jeringa Perfusor® Space, B. Braun). La dosis usada como bolo inicial fue la misma que la usada en los dos estudios anteriores. Para encontrar la dosis de infusión, se realizó un estudio piloto en el cual se encontró una dosis de mantenimiento del bloqueo neuromuscular completo de 1,2 mg/kg/h. Una vez administrado el bolo, se obtuvieron muestras sanguíneas a los tiempos 1, 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 61, 62, 65, 70, 80, 90, 105, 120, 150 y 180 minutos tras la inyección. A su vez, se obtuvieron muestras de orina (2 mL) a los tiempos 30, 60, 90, 120, 180, 240, 360 y 480 minutos post inyección. Tanto en las muestras de sangre como en las urinarias se analizaron las concentraciones de cisatracurio y de laudanosina.

TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS Y PROCEDIMIENTO ANALÍTICO

Una vez extraídas las muestras se trataron y se analizaron siguiendo el mismo procedimiento descrito en el mismo apartado del estudio 4.2.

ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO

Los datos experimentales para concentraciones plasmáticas se trataron usando un modelo cinético no compartimental. Los cálculos de los valores se obtuvieron usando el programa PK Solutions™ 2.0.2. La inclinación de la fase de eliminación

terminal se calculó mediante regresión lineal.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La descripción del promedio a lo largo del estudio de los valores farmacocinéticos se muestran como mediana y rango intercuartílico, comparando ambos grupos mediante la prueba de la U de Mann-Whitney. Los análisis estadísticos se han realizado con el programa SPSS versión 20 (IBM corporation) y se han considerado como significativos los valores de $p \leq 0,05$.

4.4.2. RESULTADOS

Los límites de detección y de cuantificación, así como los estudios de estabilidad fueron los mismos que los obtenidos en el estudio 4.2.

Los valores de frecuencia cardíaca, presión arterial, temperatura esofágica y periférica y capnometría se mantuvieron dentro de los límites de la normalidad durante todo el procedimiento.

No se detectaron niveles cuantificables de laudanosina en ninguna de las muestras sanguíneas analizadas.

Los resultados de las muestras de orina fueron muy variables y no se consideraron para su inclusión en la presente tesis doctoral.

Las concentraciones plasmáticas de CIS tras la administración de un bolo de 1 mg/kg seguido de una infusión de 1,2 mg/kg/h se presentan en la figura 29. Tras la administración del bolo e inicio de la infusión, las concentraciones plasmáticas disminuyeron durante los primeros 10 minutos. Posteriormente, las concentraciones plasmáticas alcanzaron la fase estacionaria hasta el final de la infusión, a los 60 minutos. A partir de este punto, las concentraciones plasmáticas empezaron a disminuir hasta el final del procedimiento, en el minuto 180.

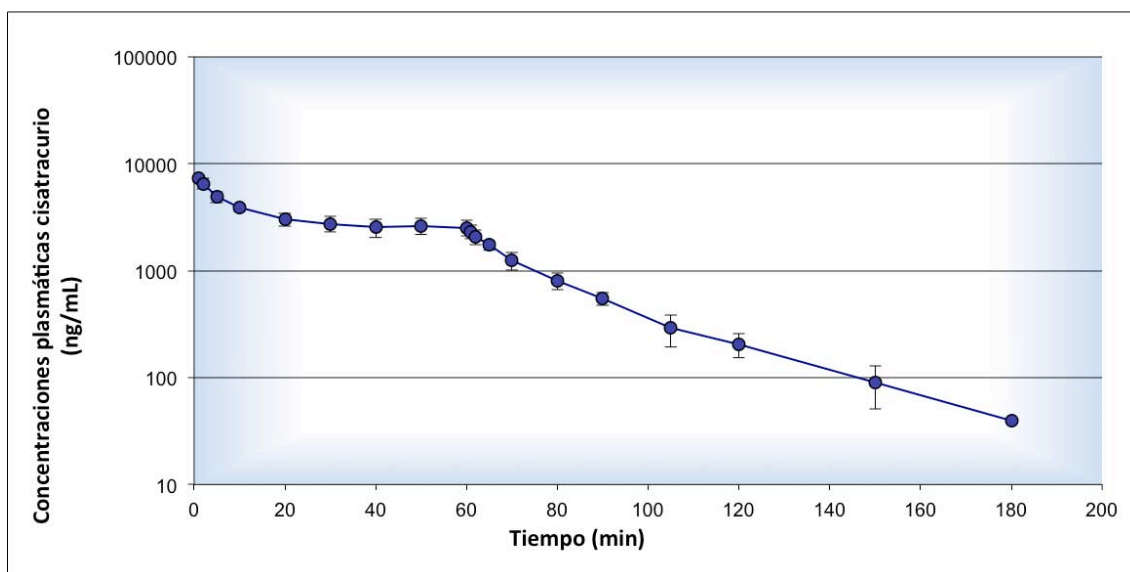


Figura 29. Media de las concentraciones plasmáticas de la infusión de cisatracurio en el cerdo tras la administración de un bolo IV de 1 mg/kg seguido de una infusión continua de 1,2 mg/kg/h durante una hora (n=8).

En la tabla 7 se muestran los valores farmacocinéticos: ratio de eliminación (β), semivida de eliminación ($t_{1/2\beta}$),

área bajo la curva (AUC) y tiempo de residencia medio (MRT).

Tabla 7. Parámetros farmacocinéticos tras la administración de un bolo IV de cisatracurio de 1 mg/kg seguido por la infusión continua de 1,2 mg/kg/h durante una hora en la especie porcina (n=8).

β (1/min)	$t_{1/2\beta}$ (min)	AUC (mg/min/mL)	MRT (min)
0,023 [0,017 – 0,039]	30,7 [18,2 – 40,1]	228,29 [221,46 – 248,26]	27,3 [24,5 – 38,4]

Cada parámetro se representa como mediana [Rango intercuartílico].

Ratio de eliminación (β), semivida de eliminación ($t_{1/2\beta}$), área bajo la curva (AUC) y tiempo de residencia medio (MRT).

4.4.3. DISCUSIÓN

El presente estudio experimental muestra los principales parámetros farmacocinéticos tras la administración de un bolo intravenoso de 1 mg/kg de CIS seguido de una infusión a 1,2 mg/kg/h durante una hora en la especie porcina.

Para la realización del procedimiento experimental, se incluyó un solo grupo de animales. Esta decisión fue tomada por varias razones. Durante la realización del estudio piloto 4.1.2 para establecer la dosis necesaria en infusión continua, a diferencia del estudio 4.1.1 para encontrar la dosis

inicial en forma de bolo, no se observaron diferencias farmacodinámicas evidentes en cuanto a tiempos de recuperación o duración del bloqueo neuromuscular entre cerdos de distintos pesos o edades. A su vez, en el estudio 4.2, como ya se ha comentado, las diferencias significativas encontradas en los parámetros de eliminación fueron probablemente debidas a variaciones en la fase terminal de eliminación y no en la fase de efectos clínicos del fármaco. De forma similar, en el estudio 4.3, no se encontraron diferencias clínicamente relevantes en cuanto a farmacodinamia y efectos cardiovasculares. Debido a esto, y con el objetivo de reducir el número de animales, se incluyó un único grupo para el estudio de la infusión continua.

Los valores farmacocinéticos obtenidos en el presente estudio son ligeramente superiores a los obtenidos en el grupo A del estudio 4.2, y claramente superiores a los obtenidos en el grupo B. Los pesos y edades de los animales incluidos en el presente estudio son más cercanos a los animales del grupo A ($37,2 \text{ kg} \pm 4,3 \text{ kg}$ vs. $26,6 \text{ kg} \pm 3,6 \text{ kg}$) aunque claramente superiores a los de éste. Debido al parecido, la farmacocinética de eliminación muestra una mayor similitud con este grupo. No obstante, podemos observar que los rangos intercuartílicos son mayores que en el

estudio 4.2. Esto muestra una mayor variabilidad en el grupo de infusión en cuanto a edades y pesos, ya que, aunque se encuentra más cercano al grupo A, es una mezcla entre ambos grupos. El AUC es muy superior al valor obtenido en los animales de bolo único ya que durante la infusión las concentraciones plasmáticas se mantienen elevadas, aumentando el área obtenida.

En veterinaria, las infusiones de BNM no se encuentran tan ampliamente extendidas como en medicina humana, y, además, si se usan, éstas duran normalmente unas pocas horas, no empleándose en medicina intensiva durante días (Boyd et al., 1996). Aún así, es importante conocer como se comportan estas infusiones ya que pueden ser usadas durante cirugías de larga duración para mantener un buen grado de bloqueo neuromuscular.

Según conocimiento del autor, existen pocos estudios en los que se evalúe la farmacocinética del CIS en pacientes sanos en medicina humana, ya que, como se ha comentado, las infusiones continuas se usan mayormente para el control de pacientes críticos en la unidad de cuidados intensivos. Aún así, Smith et al. (1997) observaron una $t_{1/2\beta}$ de 34,9 minutos tras la administración de CIS a 0,1 mg/kg seguido por la infusión de

0,18 mg/kg/h durante una media de 80 minutos aproximadamente. En otro estudio realizado a neonatos que requerían de ventilación mecánica, encontraron que la $t_{1/2\beta}$ en estos pacientes fue de 34 minutos, muy similar a la encontrada por Smith et al. (1997) tras una infusión de 64 horas de media (Reich et al., 2004). A su vez, Tran et al. (1998) encontraron una $t_{1/2\beta}$ ligeramente inferior, de 23,9 minutos. En este segundo estudio, la infusión realizada fue distinta, ya que se basó en la administración de 0,1 mg/kg de CIS en 5 minutos y no en la instauración de una infusión continua a largo término. Teniendo en cuenta la metodología seguida por estos autores en cuanto a la infusión, los dos primeros estudios muestran un valor de $t_{1/2\beta}$ muy similar al encontrado en nuestro estudio (Smith et al., 1997; Reich et al., 2004), mientras que el tercero muestra valores de $t_{1/2\beta}$ más parecidos a los encontrados en el estudio 4.2 (Tran et al., 1998). En veterinaria, según conocimiento del autor, no existen estudios que valoren la farmacocinética del CIS tras la administración de una infusión continua.

En el presente estudio, los niveles plasmáticos de laudanosina fueron analizados en todas las muestras. Aún así, la laudanosina no pudo ser detectada en ninguna de ellas, aunque los límites de detección, al igual que en el estudio 4.2, fueron de 1,9 ng/mL.

Este resultado nos demuestra, de forma similar a lo obtenido en el estudio 4.2, que el CIS puede tener un perfil metabólico distinto al del ser humano, produciendo una menor concentración de laudanosina en el cerdo, haciéndolo un fármaco útil para mantener un bloqueo neuromuscular prolongado en esta especie.

Los niveles de laudanosina encontrados en pacientes sanos tras la administración de una infusión de CIS durante 80 minutos en medicina humana fueron de entre 40 -50 ng/mL aproximadamente, cinco veces inferiores a los encontrados tras la administración de atracurio (Smith et al., 1997) siendo concentraciones similares a las obtenidas tras un bolo único de CIS (Eastwood et al, 1995). En neonatos, estos valores aumentan a 334 ng/mL tras una infusión de 64 horas de media (Reich et al., 2004). En pacientes críticos, estos niveles pueden aumentar mucho, y llegar a ser de 4,4 μ g/mL tras un bolo de 0,5 mg/kg IV de atracurio seguido por una infusión de 0,47 mg/kg/h o de 1,2 μ g/mL tras un bolo de 0,1 mg/kg IV seguido por una infusión de 0,19 mg/kg/h de CIS (Boyd et al., 1996).

En la especie porcina, por lo que se refiere al atracurio, la administración de un bolo de 2 mg/kg seguido de una infusión a 7,2 mg/kg/h durante 4 horas produjo unos niveles de laudanosina de

entre 0,5 – 1 µg/mL (Pittet et al., 1990). La dosis de infusión con atracurio en el estudio de Pittet et al. (1990) fue comparativamente muy superior a la administrada en el presente estudio con el CIS. Como se puede observar, la dosis inicial de CIS es la mitad de la de atracurio (1 mg/kg IV vs 2 mg/kg IV), mientras que la dosis de infusión en el caso del CIS es 6 veces inferior a la del atracurio (1,2 mg/kg/h vs 7,2 mg/kg/h). Es muy posible que, los niveles obtenidos de laudanosina en este caso, estén elevados debido a las altas dosis de infusión de atracurio usadas en el mencionado estudio.

De forma similar a lo ocurrido en el estudio 4.2, los resultados de las concentraciones de CIS en orina no fueron concluyentes y se descartaron para su discusión. No se observaron, a su vez, concentraciones medibles de laudanosina en orina.

4.5. ESTUDIO FARMACODINÁMICO TRAS LA ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE 1 mg/kg SEGUIDA POR LA INFUSIÓN CONTINUA DE 1,2 mg/kg/h DE CISATRACURIO EN LA ESPECIE PORCINA

4.5.1. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio experimental fue aprobado por la “Comissió d’Ètica en l’Experimentació Animal i Humana” de la Universitat Autònoma de Barcelona con los protocolos número CEEAH 2621 y DMAH 8232.

ANIMALES Y PROCEDIMIENTO

Los animales usados así como el procedimiento anestésico y la monitorización empleados para el presente estudio fueron los mismos que para el estudio 4.4.

MONITORIZACIÓN ANESTÉSICA

La monitorización de los parámetros cardiovasculares así como del perfil ácido – base se realizó de la misma forma que en el estudio 4.3. No obstante, la duración de la monitorización fue de 180 minutos.

MONITORIZACIÓN DEL BLOQUEO NEUROMUSCULAR

El posicionamiento de los animales para la monitorización del bloqueo neuromuscular se realizó de igual forma que el estudio 4.3.

En el presente estudio, una vez conseguido un señal estable por el monitor TOF, se administró un bolo de cisatracurio a 1 mg/kg en 5 segundos a través del catéter auricular seguido por la infusión de 1,2 mg/kg/h.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La descripción de resultados muestra como mediana y rango intercuartílico, comparando ambos grupos mediante la prueba de la U de Mann-Whitney. El análisis inferencial de la evaluación de los parámetros dinámicos estudiados se obtuvieron mediante modelos Generalized Estimated Equations (GEE) empleando una matriz de correlación intra-sujeto del tipo ‘unstructured’, en el modelo se ha incluido el grupo de estudio, el tiempo de observación, la interacción del grupo por tiempo con el fin de obtener las estimaciones en las que basar la inferencia y el peso del sujeto como covariable. Los análisis estadísticos se han realizado con el programa SPSS versión 20 (IBM corporation) y se han considerado como significativos los valores de $p \leq 0,05$.

4.5.2. RESULTADOS

EFFECTOS CARDIOVASCULARES Y RESPIRATORIOS

La temperatura esofágica y periférica, la capnometría y PaCO₂ y los

valores de pH se mantuvieron constantes y dentro de valores normales durante todo el procedimiento como se puede observar en la tabla 8.

Tabla 8. Valores de pH, temperatura central y periférica, EtCO₂ y PaCO₂ durante la monitorización anestésica tras la administración de un bolo IV de cisatracurio de 1 mg/kg seguido por la infusión continua de 1,2 mg/kg/h durante una hora en la especie porcina (n=8).

pH	Tª Central (°C)	Tª Periférica (°C)	EtCO ₂ (mmHg)	PaCO ₂ (mmHg)
7,480 [7,47 – 7,49]	36,50 [36,15 – 36,93]	34,67 [33,86 – 35,60]	39,50 [38,25 – 40,75]	46,05 [44,65 – 47,11]

Los parámetros se presentan como mediana [Rango intercuartílicos].

Los valores hemodinámicos se presentan en la figura 30. Tras la inyección del CIS (tiempo 0), la FC mostró diferencias significativas con respecto a los valores basales (promedio -30 a -10) del minuto 160 al 180. La PAS aumentó significativamente de los minutos 3 al 180.

30, y disminuyó de forma significativa en los minutos 130, 150 y 170. La PAM aumentó significativamente de los minutos 3 al 60. La PAD aumentó significativamente entre los minutos 5 y 40 y mostró una disminución significativa en los minutos 140 y 150.

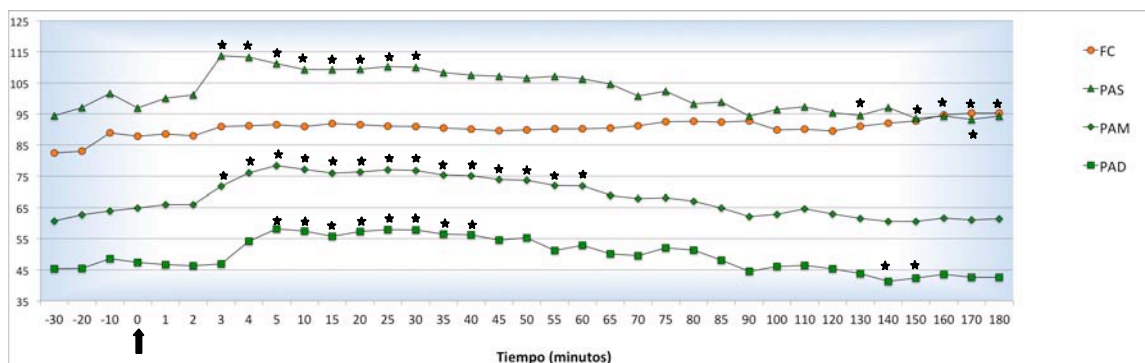


Figura 30. Media de los valores cardiovasculares (frecuencia cardíaca, presiones arteriales sistólica, diastólica y media) durante la infusión continua de cisatracurio (n=8).

Los valores de frecuencia cardíaca (FC) se expresan en latidos/minuto. La presión arterial sistólica (PAS), media (PAM) y diastólica (PAD) se expresan en mmHg. La flecha marca el momento de la administración del fármaco.

★ Valores cardiovasculares significativamente diferentes con respecto a los valores basales ($p < 0,05$).

BLOQUEO NEUROMUSCULAR

La tabla 9 muestra los valores farmacodinámicos tras la infusión de

cisatracurio. Todos los tiempos de recuperación se contaron desde la finalización de la infusión.

Tabla 9. Valores farmacodinámicos tras la infusión de cisatracurio de 1,2 mg/kg/h durante una hora precedida de un bolo de 1 mg/kg IV en el cerdo.

Valores	Infusión (n=8)
Bloqueo máximo (%)	100 [100 – 100]
Tiempo inicio (minutos)	3,17 [2,17 – 9,43]
Bloqueo durante la fase estacionaria (%)	100 [100 – 100]
Tiempo a T1 del 5% (minutos)*	8,43 [7,50 – 13,87]
Tiempo a T1 del 25% (minutos)* - Duración clínica efectiva	14,20 [13,17 – 19,12]
Tiempo a T1 del 50% (minutos)*	17,91 [16,25 – 22,12]
Tiempo a T1 del 75% (minutos)*	22,43 [19,42 – 27,12]
Tiempo a TOFR 90% (minutos)*	44,00 [42,92 – 52,12]
Tiempo entre T1 del 25 - 75% (minutos)* - Índice de recuperación	8,00 [6,25 – 9,00]

Los valores se presentan como mediana [Rango Inter cuartílico].

* Los tiempos se establecen a partir del final de la infusión (minuto 60).

**GRÁFICO FARMACOCINÉTICA/
FARMACODINAMIA**

La figura 31 muestra la relación entre la farmacocinética y la

farmacodinámica del CIS mediante la comparación entre las concentraciones plasmáticas de éste y su grado de bloqueo neuromuscular asociado.

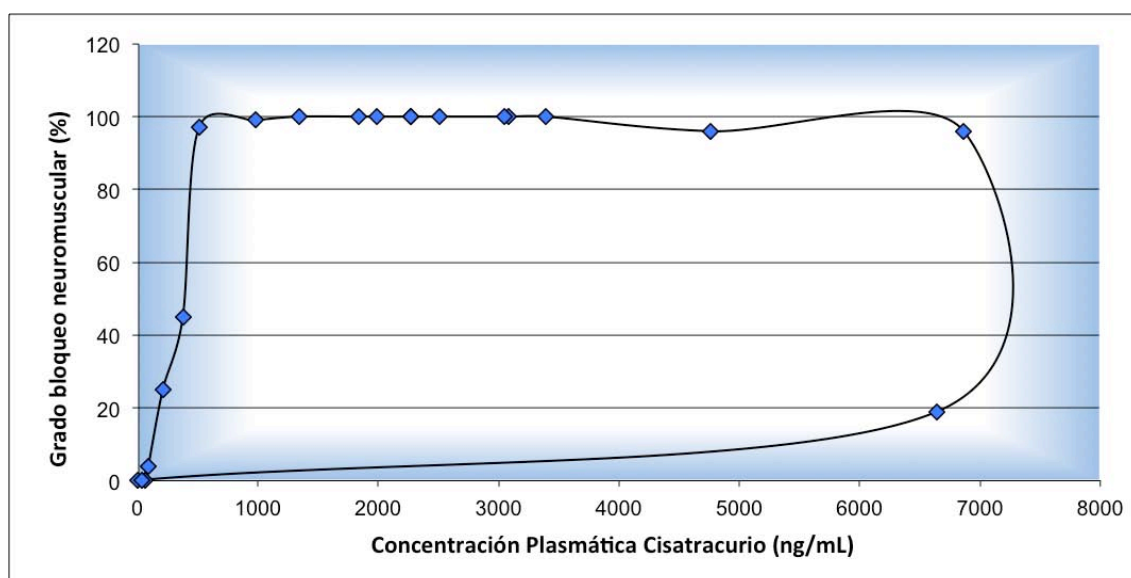


Figura 31. Gráfico concentración – efecto para la infusión de 1,2 mg/kg/h tras la administración de 1 mg/kg IV de cisatracurio en la especie porcina.

4.5.3. DISCUSIÓN

Los resultados farmacodinámicos presentados en este estudio confirman que la infusión de 1,2 mg/kg/h tras la administración de 1 mg/kg IV de cisatracurio produce un bloqueo neuromuscular completo (depresión T1 del 100%) en la especie porcina.

Las dosis usadas en el presente estudio son claramente superiores a las usadas en medicina humana, donde el bloqueo neuromuscular se puede conseguir con la infusión de 0,18 – 0,2 mg/kg/h de CIS (Boyd et al., 1996; Smith et al., 1997). Estos resultados concuerdan con las observaciones hechas por Pittet et al. (1990), quienes observaron que la especie porcina necesita dosis más elevadas de BNM para conseguir un mismo nivel de bloqueo neuromuscular que los humanos.

Existen pocos estudios de infusiones continuas de BNM en cerdos. Por lo que refiere al atracurio, Schopfer & Benakis (1990) observaron que podían mantener un bloqueo neuromuscular con depresión del 90% con la administración de un bolo de atracurio de 2 mg/kg IV seguido de una infusión de 7,2 mg/kg/h, consiguiendo unas concentraciones plasmáticas de entre 6 y 8 µg/mL durante 4 horas. Las ratios de infusión en el presente estudio son seis veces inferiores a las mencionadas

en el estudio anterior, confirmando que el CIS es más potente que el atracurio (Schopfer & Benakis, 1990; Belmont et al., 1995; Lepage et al., 1996).

En el presente estudio, todos los pacientes consiguieron un bloqueo neuromuscular del 100%. Aunque, el tiempo de inicio de acción fue de 3 minutos. El análisis farmacodinámico del bolo único de CIS mostró inicios de acción inferiores a 2 minutos. Estas diferencias pueden ser explicadas por los amplios rangos mínimo y máximo en el tiempo de inicio que encontramos en el grupo de infusión, que van de los 2 a los 22 minutos. Este valor no puede compararse directamente ya que en los grupos de bolo único, se excluyeron los pacientes que no llegaron a conseguir un bloqueo neuromuscular completo. En el grupo infusión, todos los animales llegaron al bloqueo neuromuscular completo gracias a la infusión, y por lo tanto todos los animales fueron incluidos en el estudio. El índice de recuperación (tiempo de T1 entre el 25% y el 75%) en el grupo infusión es similar a los obtenidos en los grupos de bolo único (8,00 minutos vs. 8,38 y 8,25 minutos). Este resultado es esperable ya que este valor es considerado un valor constante de recuperación en los BNM. Todos los otros tiempos de recuperación muestran diferencias con respecto a los grupos de bolo único, ya que en el grupo infusión, las concentraciones de CIS cuando

empieza la recuperación son inferiores. Así, los tiempos de recuperación en el grupo infusión fueron más rápidos que en los otros dos grupos.

Cuando comparamos los resultados farmacodinámicos con los obtenidos en medicina humana, podemos observar que los tiempos de inicio son muy similares. Smith et al. (1997) encontraron tiempos de inicio de acción de 3,6 minutos mientras Mellinshoff et al. (1996) observaron tiempos de inicio de acción de 3,1 minutos. A su vez, la duración clínica efectiva fue muy similar a la observada en el presente estudio (16,3 y 16,5 minutos en medicina humana vs. 14,2 minutos en la especie porcina) (Mellinshoff et al., 1996; Smith et al., 1997). En cambio, los índices de recuperación encontrados en medicina humana son el doble que los observados en el presente estudio (Mellinshoff et al., 1996; Smith et al., 1997). En ambos casos, se debe tener en cuenta una diferencia metodológica, ya que emplearon métodos de monitorización del bloqueo neuromuscular distintos a la AMG. Esta tendencia también se describe en el estudio 4.3, en el que los índices de recuperación son inferiores en el cerdo que los encontrados en la mayoría de estudios realizados en medicina humana.

Los resultados del presente estudio muestran que el bloqueo neuromuscular efectivo (Tiempo de T1 a 25% - Duración Clínica Efectiva) desaparece a los 14 minutos del cese de la infusión. Comparando estos resultados con los del estudio farmacocinético (estudio 4.4), este momento correspondería a unas concentraciones plasmáticas de CIS entre los 1000 y los 2000 ng/mL.

Para poder entender el comportamiento de los BNM, se puede estudiar el gráfico de concentración plasmática y efectos clínicos. En la gran mayoría de fármacos, a mayor concentración plasmática, mayor efecto del fármaco, llegando a un punto de saturación. En el caso de los BNM, el gráfico de concentración plasmática en relación con los efectos clínicos muestra un efecto de histéresis (Chen et al., 2008). Este efecto aparece en fármacos que necesitan de una distribución a compartimentos secundarios, como sería el compartimiento muscular en el caso de los BNM. En este gráfico se puede observar que, cuando se administra el fármaco y se alcanzan las mayores concentraciones plasmáticas, el efecto observado es bajo. A medida que disminuye la concentración plasmática y el fármaco va llegando al sitio de acción, el efecto va aumentando hasta que llega al máximo efecto (bloqueo neuromuscular del 100%). A partir de

aquí, a medida que la dosis disminuye, el efecto va decreciendo ya que el fármaco se elimina y va desapareciendo del sitio de acción hasta desaparecer completamente (Viby-Mogensen et al., 2000). Analizando el gráfico, podemos observar que el efecto clínico de bloqueo neuromuscular completo se obtiene manteniendo unas concentraciones plasmáticas de entre 1000 y 5000 ng/mL aproximadamente. La dosis inicial administrada nos permite obtener concentraciones plasmáticas iniciales de entre 6000 – 8000 ng/mL. Teniendo en cuenta estos valores, y observando el gráfico de concentraciones plasmáticas en relación al tiempo, se podría administrar una dosis inicial inferior disminuyendo así la cantidad de fármaco necesaria.

Tras la administración de 1 mg/kg de CIS seguido de una infusión de 1,2 mg/kg/h, hay un aumento de presión arterial apreciable des de el minuto 3 hasta el minuto 5 y que disminuye lentamente hasta volver a los valores basales. Este aumento concuerda con lo encontrado en el estudio farmacodinámico de la administración de 1 mg/kg de CIS (estudio 4.3), en el cual se observó un aumento de las presiones arteriales y la frecuencia cardíaca, debidas probablemente a la acción del CIS sobre los receptores muscarínicos M2 (Staffieri et al., 2011) poniendo de manifiesto la acción de

este BNM sobre estos receptores cuando se administra a dosis altas. A su vez, se observaron disminuciones de la PAS y la PAD al final del experimento, juntamente con un aumento de la FC. Estos cambios no se asocian a un efecto del CIS, ya que sus concentraciones a los 130 minutos son ya muy bajas y es improbable que el CIS ejerza algún efecto. Los cambios podrían asociarse a una disminución de la presión arterial derivada de la anestesia juntamente con un aumento de la frecuencia cardíaca compensatoria. Finalmente, la infusión continua de 1,2 mg/kg/h de CIS no parece ejercer alteraciones adicionales en la frecuencia cardíaca ni en las presiones arteriales, pero si parece mantener los aumentos producidos por la administración del bolo único.

Al igual que los efectos clínicos, los efectos adversos sufren de un efecto de histéresis. Los cambios asociados a la administración del bolo de CIS aparecen entre los 3 y los 5 minutos. Al igual que se ha comentado anteriormente, una disminución del bolo inicial podría disminuir la aparición de los efectos adversos asociados a su administración. Aunque los cambios no son clínicamente significativos, evitar su aparición podría ser beneficioso para mantener una mejor estabilidad cardiovascular en animales sometidos a procedimientos dónde este sistema se pueda ver comprometido.

5. CONCLUSIONES

1. La administración de un bolo de 1 mg/kg IV de cisatracurio en cerdos de 26,6 kg \pm 3,6 kg y de 57,4 kg \pm 8,25 kg produce un perfil farmacocinético similar, observando una disminución brusca de las concentraciones plasmáticas durante los primeros 5 minutos.
2. La ratio de eliminación, semivida de eliminación, tiempo de residencia medio y volumen de distribución, obtenidos tras la administración de 1 mg/kg IV de cisatracurio en cerdos de 26,6 kg \pm 3,6 kg y de 57,4 kg \pm 8,25 kg son significativamente diferentes. Este hecho que concuerda con las observaciones descritas en las guías de variaciones en los valores farmacocinéticos según la edad.
3. La administración de 1 mg/kg vía IV de cisatracurio en la especie porcina no ha producido concentraciones plasmáticas de laudanosina.
4. La administración intravenosa de 1 mg/kg de cisatracurio en la especie porcina produce un bloqueo neuromuscular superior al 95% con un inicio de acción inferior a los 2 minutos y duración clínica efectiva de 26 minutos aproximadamente.
5. La administración intravenosa de 1 mg/kg de cisatracurio en la especie porcina produce un aumento significativo de la presión arterial y de la frecuencia cardíaca a los 5 minutos aproximadamente sin significación clínica en pacientes sanos.
6. La edad y el peso no parecen afectar a los parámetros farmacodinámicos de duración de acción y recuperación del bloqueo neuromuscular aunque si afectan al tiempo de inicio de acción. A su vez, estos parámetros parecen afectar al grado de alteración sobre los valores cardiovasculares, observando cambios mayores en el grupo de cerdos de entre 4 y 5 meses de edad.
7. La administración de un bolo de 1 mg/kg IV seguido de una infusión continua de 1,2 mg/kg/h en cerdo produce un perfil farmacocinético similar al del bolo único, detectándose concentraciones plasmáticas hasta los 120 minutos del cese de la infusión.
8. La administración de 1 mg/kg vía IV de cisatracurio seguido por la infusión continua de 1,2 mg/kg/h durante 60 minutos, en la especie porcina, no ha producido concentraciones plasmáticas de laudanosina.
9. La administración de cisatracurio en infusión continua a una velocidad de 1,2 mg/kg/h precedida por un bolo IV de 1 mg/kg produce un bloqueo neuromuscular del 100% llegando a un estado de equilibrio a los veinte minutos, sin acumulación de fármaco apreciable tras 60 minutos de administración en la especie porcina.

10. Los valores farmacodinámicos así como los parámetros cardiovasculares tras la administración de una infusión continua de cisatracurio muestran un perfil similar a los obtenidos tras la administración de un bolo único. La administración de 1,2 mg/kg/h de cisatracurio no parece exacerbar estos cambios en los valores hemodinámicos.
11. La curva de concentraciones plasmáticas en relación con el bloqueo neuromuscular muestra un efecto de histéresis típico en los bloqueantes neuromusculares.
12. No se obtuvieron resultados representativos para las concentraciones de cisatracurio y laudanosina en orina probablemente debido a la metodología usada.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Adams WA, Senior JM, Jones RS, Williams JM, Gleed RD. Cis-atracurium in dogs with porto-systemic shunts. *Vet Anaesth Analg* 33: 17 – 23 (2006).
2. Adamus M, Belohlavek R, Koutna J, Vujcikova M, Janaskova E. Cisatracurium vs. rocuronium: a prospective, comparative, randomized study in adult patients under total intravenous anaesthesia. *Biomed Pap Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 150(2): 333 – 338 (2006).
3. Ali HH, Utting JE, Gray C. Stimulus frequency in the detection of neuromuscular block in humans. *Br J Anaesth* 42: 967 – 978 (1970).
4. Anaesthetists and the reporting of adverse drug reactions. *Br Med J* 292: 949 (1986).
5. Ansermino JM, Sanderson PM, Bevan JC, Bevan DR. Acceleromyography improves detection of residual neuromuscular blockade in children. *Can J Anaesth* 43(6): 589 – 594 (1996).
6. Baillard C, Clec'h C, Catineau J, Salhi F, Gehan G, Cupa M, Samama CM. Postoperative residual neuromuscular block: a survey of management. *Br J Anaesth* 95(5): 622 – 626 (2005).
7. Baird WLM, Reid AM. The neuromuscular blocking properties of a new steroid compound, pancuronium bromide. *Br J Anaesth* 39: 775 – 780 (1967).
8. Baraka A. Suxamethonium block in the myasthenic patient. *Anaesthesia* 47: 217 – 219 (1992).
9. Baraka A. The influence of carbon dioxide on the neuromuscular block caused by tubocurarine chloride in the human subject. *Br J Anaesth* 36: 272 – 278 (1964).
10. Bartelink IH, Rademaker CMA, Schobben A, Van den Anker JN. Guidelines on paediatric dosing on the basis of developmental physiology and pharmacokinetic considerations. *Clin Pharmacokinet* 45(11): 1077 – 1097 (2006).
11. Basta SJ, Ali HH, Savarese JJ, Sunder N, Gionofriddo M, Cloutier G, Lineberry C, Cato AE. Clinical pharmacology of atracurium besylate (BW 33A): a new non-depolarizing muscle relaxant. *Anesth Analg* 61: 723 – 729 (1982).
12. Beecher HK, Todd DP. A study of the deaths associated with anesthesia and surgery. *Ann Surg* 140(1): 2 – 34 (1954).
13. Belmont MR, Lien CA, Quessy S, Abou-Donia MM, Abalos A, Eppich L, Savarese JJ. The clinical neuromuscular pharmacology of 51W89 in patients receiving nitrous oxide/opioid/barbiturate anesthesia. *Anesthesiology* 82: 1939 – 1145 (1995).

14. Benson GJ, Thurmon JC. Clinical pharmacology of succinylcholine. *JAVMA* 176: 646 – 647 (1980).
15. Berg H, Viby-Mogensen J, Roed J, Mortensen CR, Engbæk J, Skovgaard LT, Krintel JJ. Residual neuromuscular block is a risk factor for postoperative pulmonary complications. *Acta Anaesthesiol Scand* 41: 1095 – 1103 (1997).
16. Bergeron L, Bevan DR, Berrill A, Kahwaji R, Varin F. Concentration-effect relationship of cisatracurium at three different dose levels in the anesthetized patient. *Anesthesiology* 95: 314 – 323 (2001).
17. Bhatt SB, Amann A, Nigrovic N. Modelling of twitch fade based on slow interaction of nondepolarizing muscle relaxants with the presynaptic receptors. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 33(4): 461 – 482 (2006).
18. Bhatt SB, Kohl J, Amann A, Nigrovic V. The relationship between twitch depression and twitch fade during neuromuscular block produced by vecuronium: correlation with the release of acetylcholine. *Theor Biol Med Model* 16(4): 24 – 30 (2007).
19. Bochner BS, Lichtenstein LM. Anaphylaxis. *N Engl J Med* 324(25): 1785 – 1790 (1991).
20. Bowman WC. Pharmacology of neuromuscular function. Ed: John Wright, Bristol (1980).
21. Bowman WC, Prior C, Marshall IG. Presynaptic receptors in the neuromuscular junction. *Ann N Y Acad Sci* 604: 69 – 81 (1990).
22. Boyd AH, Eastwood NB, Parker CJR, Hunter JM. Comparison of the pharmacodynamics and pharmacokinetics of an infusion of cis-atracurium (51W89) or atracurium in critically ill patients undergoing mechanical ventilation in an intensive therapy unit. *Br J Anaesth* 76: 382 – 388 (1996).
23. Braga AFA, Braga FSS, Potério GMB, Frias JAF, Pedro FMS, Munhoz DC. Influence of hypnotics on cisatracurium-induced neuromuscular block. Use of acceleromyography. *Rev Bras Anesthesiol* 63(3): 249 – 253 (2013).
24. Braga AFA, Carvalho VH, Braga FSS, Rodrigues-Simioni L, Loyola YCS, Potério GB. Influence of local anesthetics on the neuromuscular blockade produced by rocuronium. Effects of lidocaine and 50% enantiomeric excess bupivacaine on the neuromuscular junction. *Rev Bras Anesthesiol* 59(6): 729 – 734 (2009).
25. Bremer J, Greenberg DM. Methyl transferring enzyme system of microsomes in the biosynthesis of lecithin (phosphatidylcholine). *Biochim*

- Biophys Acta* 46(2): 205 – 216 (1961).
26. Brett RS, Dilger JP, Yland KF. Isoflurane causes “flickering” of the acetylcholine receptor channel: observations using the patch clamp. *Anesthesiology* 69: 161 – 170 (1988).
27. Bryson HM, Faulds D. Cisatracurium besylate. *Drugs* 53(5): 848 – 866 (1997).
28. Buzello W, Williams CH, Chandra P, Watkins ML, Dozier SE. Vecuronium and porcine malignant hyperthermia. *Anesth Analg* 64:515 – 519 (1985).
29. Carroll MT, Mirakhur RK, Lowry DW, Glover P, Kerr CJ. A comparison of the neuromuscular blocking effects and reversibility of cisatracurium and atracurium. *Anaesthesia* 53: 744 – 748 (1998a).
30. Carroll MT, Mirakhur RK, Lowry DW, McCourt KC, Kerr C. Neuromuscular blocking effects and train-of-four fade with cisatracurium: comparison with other nondepolarising relaxants. *Anaesthesia* 53: 1169 – 1173 (1998b).
31. Castillo JC, Beer EJ. The neuromuscular blocking action of succinylcholine (diacetylcholine). *J Pharmacol Exp Ther* 99: 458 – 464 (1950).
32. Chapple DJ, Miller AA, Ward JB, Wheatley PL. Cardiovascular and neurological effects of laudanosine. *Br J Anaesth* 59: 218 – 225 (1987).
33. Chen C, Yamaguchi N, Varin F. Dose-dependency of pharmacokinetic/ pharmacodynamic parameters after intravenous bolus doses of cisatracurium. *Br J Anaesth* 101(6): 788 – 797 (2008).
34. Chen C, Yamaguchi N, Varin F. Studies on the pharmacokinetics of cisatracurium in anesthetized dogs: in vitro-in vivo correlations. *J Vet Pharmacol Therap* 32: 571 – 576 (2009).
35. Churchill-Davidson HC, Christie TH. The diagnosis of neuromuscular block in man. *Br J Anaesth* 31: 290 – 301 (1959).
36. Clarke KW, Trim CM, Hall LW. Relaxation of the skeletal muscles. In: *Veterinary anaesthesia*. Ed: Elsevier Saunders, London. 169 – 194 (2014).
37. Claudius C, Viby-Mogensen J. Acceleromyography for use in scientific and clinical practice. *Anesthesiology* 108: 1117 – 1140 (2008).
38. Clendenen SR, Harper JV, Wharen RE, Guarderas JC. Anaphylactic reaction after cisatracurium. *Anesthesiology* 87: 690 – 692 (1997).
39. Clutton E. Surgical muscle relaxation and neuromuscular blockade. *In Pract* 29: 574 – 583 (2007).

40. Coca AF, Cooke RA. On the classification of the phenomena of hypersensitiveness. *J Immunol* 8(3): 163 – 182 (1923).
41. Cook DR, Freeman JA, Lai AA, Robertson KA, Kang Y, Stiller RL, Aggarwal S, Abou-Donia MM, Welch RM. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of doxacurium in normal patients and in those with hepatic or renal failure. *Anesth Analg* 72: 145 – 150 (1991).
42. Cooke JD, Okamoto K, Quastel DMJ. The role of calcium in depolarization-secretion coupling at the motor nerve terminal. *J Physiol* 228: 459 – 497 (1973).
43. Cookson JC, Paton WDM. Mechanisms of neuromuscular block. *Anaesthesia* 24(3): 395 – 416 (1969).
44. Cullen SC. The use of curare for improvement of abdominal relaxation during cyclopropane anesthesia. *Surgery* 14: 216 (1943).
45. Curran MJ, Donati F, Bevan DR. Onset and recovery of atracurium and suxamethonium - induced neuromuscular blockade with simultaneous train-of-four and single twitch stimulation. *Br J Anaesth* 59(8): 989 – 994 (1987).
46. Dabaene B, Plaud B, Dilly MP, Donati F. Residual paralysis in the PACU after a single intubating dose of nondepolarizing muscle relaxant with an intermediate duration of action. *Anesthesiology* 98: 1042 – 1048 (2003).
47. Dahaba AA, Klobucar F, Rehak PH, List WF. Comparison of a new piezoelectric train-of-four neuromuscular monitor, the ParaGraph, and the Relaxometer mechanomyography. *Br J Anaesth* 82(5): 780 – 782 (1999).
48. De Wolf AM, Freeman JA, Scott VL, Tullock W, Smith DA, Kisor DF, Kerls S, Cook DR. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cisatracurium in patients with end-stage liver disease undergoing liver transplantation. *Br J Anaesth* 76: 624 – 628 (1996).
49. Della Rocca G, Pompei L, Coccia C, Costa MG, Cecchini V, Vilardi V, Pietropaoli P. Atracurium, cisatracurium, vecuronium and rocuronium in patients with renal failure. *Minerva Anesthesiol* 69: 605 – 615 (2003).
50. Descalu A, Geller E, Mealem Y, Manoah M, Enav S, Rudick Z. Acoustic monitoring of intraoperative neuromuscular block. *Br J Anaesth* 83(3): 405 – 409 (1999).
51. Dhonneur G, Cerf C, Lagneau F, Mantz J, Gillotin C, Duvaldestin P. The pharmacokinetics of cisatracurium in patients with acute respiratory distress

- syndrome. *Anesth Analg* 93: 400 – 404 (2001).
52. Dilger JP, Vidal AM, Mody HI, Liu Y. Evidence for direct actions of general anesthetics on an ion channel protein. *Anesthesiology* 81: 431 – 442 (1994).
53. Donati F, Meistelman C, Plaud B. Vecuronium neuromuscular blockade at the adductor muscles of the larynx and adductor pollicis. *Anesthesiology* 74: 833 – 837 (1991).
54. Drenck NE, Ueda N, Olsen NV, Engbæk J, Jensen E, Skovgaard LT, Viby-Mogensen J. Manual evaluation of residual curarization using double burst stimulation: a comparison with train-of-four. *Anesthesiology* 70: 578 – 581 (1989).
55. Duvaldestin P, Agoston S, Henzel D, Kersten UW, Desmots JM. Pancuronium pharmacokinetics in patients with liver cirrhosis. *Br J Anaesth* 50: 1131 – 1136 (1978).
56. Eastwood NB, Boyd AH, Parker CJR, Hunter JM. Pharmacokinetics of 1R-cis 1'R-cis atracurium besylate (51W89) and plasma laudanosine concentrations in health and chronic renal failure. *Br J Anaesth* 75: 431 – 435 (1995).
57. Elarief M, Ibrahim E, Magadi P. Myasthenia gravis: towards a safer anesthesia technique. Clinical experience and review of literature. *The Internet Journal of Anesthesiology* 11(2): (2006).
58. Finkel DM, Capmourteres EM, Wikinski JA. Farmacología de los relajantes neuromusculares. En: *Texto de anestesiología teórico-práctica*. Ed: Manual moderno, México DF. 333 – 363 (2004).
59. Fischer U, Reinhardt S, Albuquerque EX, Maelicke A. Expression of functional $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor during mammalian muscle development and denervation. *Eur J Neurosci* 11: 2856 – 2864 (1999).
60. Fisher DM. Neuromuscular blocking agents in paediatric anaesthesia. *Br J Anaesth* 83(1): 58 – 64 (1999).
61. Fisher DM, Canfell PA, Fahey MR, Rosen JI, Rupp SM, Sheiner LB, Miller RD. Elimination of atracurium in humans: contribution of Hofmann elimination and ester hydrolysis versus organ-based elimination. *Anesthesiology* 65: 6 – 12 (1986).
62. Fisher DM, Canfell PC, Spellman MJ, Miller RD. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of atracurium in infants and children. *Anesthesiology* 73: 33 – 37 (1990).
63. Foldes FF, McNall PG, Borrego-Hinojosa JM. Succinylcholine: a new approach to muscular relaxation in anaesthesiology. *N Eng J Med* 247(16): 596 – 600 (1952).

64. Fuchs-Buder T, Claudius C, Skovgaard LT, Eriksson LI, Mirakhur RK, Viby-Mogensen J. Good clinical research practice in pharmacodynamic studies of neuromuscular blocking agents II: the Stockholm revision. *Acta Anaesthesiol Scand* 51: 789 – 808 (2007).
65. Fuchs-Buder T, Schreiber JU, Meistelman C. Monitoring neuromuscular block: an update. *Anaesthesia* 64: 82 – 89 (2009).
66. Gencarelli PJ, Swen J, Koot HWJ, Miller RD. The effects of hypercarbia and hypocarbia on pancuronium and vecuronium neuromuscular blockades in anesthetized humans. *Anesthesiology* 59: 376 – 380 (1983).
67. Girling KJ, Mahajan RP. The effect of stabilization on the onset of neuromuscular block when assessed using accelerometry. *Anesth Analg* 82: 1257 – 1260 (1996).
68. Gissen AJ, Katz RL, Karis JH, Papper EM. Neuromuscular block in man during prolonged arterial infusion with succinylcholine. *Anesthesiology* 27(3): 242 – 249 (1966).
69. Goebel U, Siepe M, Mecklenburg A, Stein P, Roesslein M, Schwer CI, Schmidt R, Doenst T, Geiger KK, Pahl HL, Schlensak C, Loop T. Carbon monoxide inhalation reduces pulmonary inflammatory response during cardiopulmonary bypass in pigs. *Anesthesiology* 108: 1025 – 1036 (2008).
70. González-García C, Martín ED, Fernández M. Transmisión colinérgica. Fármacos agonistas colinérgicos. *En: Farmacología humana*. Ed: Elsevier Masson, Barcelona. 269 – 286 (2008).
71. Greene SA, Benson GJ, Tranquilli WJ, Grimm KA. Effect of isoflurane, atracurium, fentanyl, and noxious stimulation on bispectral index in pigs. *Comp Med* 54(4): 397 – 403 (2004).
72. Griffith HR, Johnson GE. The use of curare in general anesthesia. *Anesthesiology* 3: 418 – 420 (1942).
73. Guo J, Zhou X, Yuan X, Shen H, Zhang Y. Age and the neuromuscular blocking effects of cisatracurium. *Int J Clin Exp Med* 8(9): 16664 – 16669 (2015).
74. Hall JE. Excitación del músculo esquelético: transmisión neuromuscular y acoplamiento excitación – contracción. *En: Guyton & Hall Tratado de fisiología médica*. Ed: Elsevier Sanders, Madrid. 85 – 92 (2006).
75. Ham J, Miller RD, Benet LZ, Matteo RS, Roderick LL. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of d-tubocurarine during hypothermia in the cat.

- Anesthesiology* 49: 324 – 329 (1978).
76. Heier T, Caldwell JE, Sessler DI, Kitts JB, Miller RD. The relationship between adductor pollicis twitch tension and core, skin, and muscle temperature during nitrous oxide-isoflurane anesthesia in humans. *Anesthesiology* 71: 381 – 384 (1989).
77. Heier T, Caldwell JE, Sessler DI, Miller RD. Mild intraoperative hypothermia increases duration of action and spontaneous recovery of vecuronium blockade during nitrous oxide-isoflurane anesthesia in humans. *Anesthesiology* 74:815 – 819 (1991).
78. Hemmerling TM, Donati F, Babin D, Beaulieu P. Duration of control stimulation does not affect onset and offset of neuromuscular blockade at the corrugator supercilii muscle measured with phonomyography or acceleromyography. *Can J Anesth* 49(9): 913 – 917 (2002).
79. Hennis PJ, Fahey MR, Canfell C, Shi W, Miller RD. Pharmacology of laudanosine in dogs. *Anesthesiology* 65: 56 – 60 (1986).
80. Hoffmann U, Grosse-Sundrup M, Eikermann-Haerter K, Zaremba S, Ayata C, Zhang B, Isaacs L, Eikermann M. Calabadiol a new agent to reverse the effects of benzylisoquinoline and steroidal neuromuscular-blocking agents. *Anesthesiology* 119(2): 317 – 325 (2013).
81. Hubbell JAE. Disadvantages of neuromuscular blocking agents. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 22(2): 351 – 352 (1992).
82. Hughes R, Chapple J. The pharmacology of atracurium: a new competitive neuromuscular blocking agent. *Br J Anaesth* 53: 31 – 44 (1981).
83. Hurbult WP, Longenecker HB, Mauro A. Effects of calcium and magnesium on the frequency of miniature end-plate potentials during prolonged tetanization. *J Physiol* 219(1): 17 – 38 (1971).
84. Iazzo PA, Kehler CH, Carr RJ, Sessler DI, Belani KG. Prior hypothermia attenuates malignant hyperthermia in susceptible swine. *Anesth Analg* 82: 803 – 809 (1996).
85. Iazzo PA, Wedel DJ. Response to succinylcholine in porcine malignant hyperthermia. *Anesth Analg* 79: 143 – 151 (1994).
86. Ilkiw JE. Advantages of and guidelines for using neuromuscular blocking agents. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 22(2): 347 – 350 (1992).
87. Imbeault K, Withington DE, Varin F. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of a 0.1 mg/kg dose of cisatracurium besylate in children during N₂O/O₂/Propofol anesthesia.

- Anesth Analg* 102: 738 – 743 (2006).
88. Jaramillo F, Schuetze SM. Kinetic differences between embryonic- and adult-type acetylcholine receptors in rat myotubes. *J Physiol* 396: 267 – 296 (1988).
89. Jones RS, Auer U, Mosing M. Reversal of neuromuscular block in companion animals. *Vet Anaesth Analg* 42(5): 455 – 471 (2015).
90. Jurado OM, Mosing M, Kutter APN, Boretti F, Bettschart-Wolfensberger R. Cardiovascular effects of cis-atracurium overdose in a dog following misplacement of neuromuscular monitoring electrodes. *Vet Anaesth Analg* 39: 555 – 557 (2012).
91. Kastrup MR, Marisco FF, Ascoli FO, Becker T, Soares JHN, Gomez de Segura IA. Neuromuscular blocking properties of atracurium during sevoflurane or propofol anaesthesia on dogs. *Vet Anaesth Analg* 32: 222 – 227 (2005).
92. Katz RL. Electromyographic and mechanical effects of suxamethonium and tubocurarine on twitch, tetanic and post-tetanic responses. *Br J Anaesth* 45: 849 – 859 (1973).
93. Keegan RD. Muscle relaxants and neuromuscular blockade. *In: Veterinary anesthesia and analgesia*. Ed: Wiley-Blackwell, Oxford. 260 - 276 (2015).
94. Kirchhausen T. Clathrin adaptors really adapt. *Cell Vol* 109: 413 – 416 (2002).
95. Kirov K, Motamed C, Decailliot F, Behforouz N, Duvaldestin P. Comparison of the neuromuscular blocking effect of cisatracurium and atracurium on the larynx and the adductor pollicis. *Acta Anaesthesiol Scand* 48: 577 – 581 (2004).
96. Kisor DF, Schmith VD, Wargin WA, Lien CA, Ornstein E, Cook DR. Importance of the organ-independent elimination of cisatracurium. *Anesth Analg* 83:1065 – 1071 (1996).
97. Kopman AF. Normalization of the acceleromyographic train-of-four fade ratio. *Acta Anaesthesiol Scand* 49: 1575 – 1576 (2005).
98. Kopman AF. Pancuronium, gallamine, and d-Tubocurarine compared: is speed of onset inversely related to drug potency? *Anesthesiology* 70: 915 – 920 (1989).
99. Kopman AF, Klewicka MM, Neuman GG. The relationship between acceleromyographic train-of-four fade and single twitch depression. *Anesthesiology* 96: 583 – 587 (2002).
100. Kopman AF, Kumar S, Klewicka MM, Neuman GG. The staircase

- phenomenon. *Anesthesiology* 95: 403 – 407 (2001).
101. Kopta C, Steinbach JH. Comparison of mammalian adult and fetal nicotinic acetylcholine receptors stability expressed in fibroblasts. *J Neurosci* 14(6): 3922 – 3933 (1994).
102. Krarup C. Enhancement and diminution of mechanical tension evoked by staircase and by tetanus in rat muscle. *J Physiol* 311: 355 – 372 (1981).
103. Krombach J, Hunzelmann N, Köster F, Bischoff A, Hoffmann-Menzel H, Buzello W. Anaphylactoid reactions after cisatracurium administration in six patients. *Anesth Analg* 93: 1257 – 1259 (2001).
104. Laxenaire MC et le Groupe d'études des réactions anaphylactoïdes peranesthésiques. Épidémiologie des réactions anaphylactoïdes peranesthésiques. Quatrième enquête multicentrique (juillet 1994-décembre 1996). *Ann Fr Anesth Réanim* 18: 796 – 809 (1999).
105. Laxenaire MC et le Groupe d'études des réactions anaphylactoïdes peranesthésiques. Substances responsables des chocs anaphylactiques peranesthésiques. Troisième enquête multicentrique française (1992-1994). *Ann Fr Anesth Réanim* 15: 1211 – 1218 (1996).
106. Laxenaire MC, Moneret-Vautrin DA, Watkins J. Diagnosis of the causes of anaphylactoid anaesthetic reactions. *Anaesthesia* 38: 147 – 148 (1983).
107. Lee C, Katz RL. Muscle relaxants 2006: a clinical and basic science update and commentary. *Semin Anesth* 24: 154 – 164 (2005).
108. Lee C, Katz RL. Neuromuscular pharmacology. *Br J Anaesth* 52: 173 – 188 (1980).
109. Legros CB, Orliaguet GA, Mayer MN, Labbez F, Carli PA. Severe anaphylactic reaction to cisatracurium in a child. *Anesth Analg* 92: 648 – 649 (2001).
110. Lepage JY, Malinovsky JM, Malinge M, Lechevalier T, Dupuch C, Cozian A, Pinaud M, Souron R. Dose-response and safety study of cisatracurium (51W89) in adult surgical patients during N₂O-O₂-opioid anesthesia. *Anesth Analg* 83: 823 – 829 (1996).
111. Leslie K, Sessler DI, Bjorksten AR, Moyer A. Mild hypothermia alters propofol pharmacokinetics and increases the duration of action of atracurium. *Anesth Analg* 80: 1007 – 1014 (1995).
112. Lien CA, Belmont MR, Abalos A, Eppich L, Quessy S, Abou-Donia MM, Savarese JJ. The

- cardiovascular effects and histamine-releasing properties of 51W89 in patients receiving nitrous oxide/opioid/barbiturate anesthesia. *Anesthesiology* 82: 1131 – 1138 (1995).
113. Llinás R, Nicholson C. Calcium role in depolarization-secretion coupling: an aequorin study in squid giant synapse. *Proc Nat Acad Sci USA* 72(1): 187 – 190 (1975).
114. Lowalekar SK, Cao H, Lu X, Treanor PR, Allam CK, Birjiniuk V, Leissner KB, Hemant ST. The progression of isoflurane-induced malignant hyperthermia and its attenuation by cisatracurium in a pre-clinical porcine model of heart transplant. *J Anesth Clin Res* 4(365): doi:10.4172/2155-6148.1000365 (2013).
115. Lu H, Rosenbaum S. Developmental pharmacokinetics in pediatric populations. *J Pediatr Pharmacol Ther* 19(4): 262 – 276 (2014).
116. Lu I, Wang H, Kuo Y, Shieh C, Chiang F, Wu C, Tsai C. Electromyographic study of differential sensitivity to succinylcholine of the diaphragm, laryngeal and somatic muscles: a swine model. *Kaohsiung J Med Sci* 26(12): 640 – 646 (2010).
117. Marchbanks RM. Exchangeability of radioactive acetylcholine with the bound acetylcholine of synaptosomes and synaptic vesicles. *Biochem J* 106: 87 – 95 (1968).
118. Marshall CG, Ogden DC. The actions of suxamethonium (succinylcholine) as an agonist and channel blocker at the nicotinic receptor of frog muscle. *J Physiol* 428: 155 – 174 (1990).
119. Martínez EA. Newer neuromuscular blockers. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 29(3): 811 – 817 (1999).
120. Martin-Flores M, Campoy L, Ludders JW, Erb HN, Gleed RD. Comparison between acceleromyography and visual assessment of train-of-four for monitoring neuromuscular blockade in horses undergoing surgery. *Vet Anaesth Analg* 35: 220 – 227 (2008).
121. Martin-Flores M, Lau EJ, Campoy L, Erb HN, Gleed RD. Twitch potentiation: a potential source of error during neuromuscular monitoring with acceleromyography in anesthetized dogs. *Vet Anesth Analg* 38: 328 – 335 (2011).
122. Martin-Flores M, Paré MD, Campoy L, Gleed RD. The sensitivity of sheep to vecuronium: an example of the limitations of extrapolation. *Can J Anesth* 59: 722 – 723 (2012).
123. Martin-Flores M, Sakai DM, Campoy L, Gleed RD. Recovery from neuromuscular block in dogs: restoration of

- spontaneous ventilation does not exclude residual blockade. *Vet Anaesth Analg* 41: 269 – 277 (2014).
124. Martyn JAJ, Fagerlund MJ, Eriksson LI. Basic principles of neuromuscular transmission. *Anaesthesia* 64 (Supp.1): 1 – 9 (2009).
125. Matalová P, Urbánek K, Anzenbacher P. Specific features of pharmacokinetics in children. *Drug Metab Rev* 48(1): 70 – 79 (2016).
126. Mazzinari G. El fenómeno de facilitación y sus implicaciones en la monitorización neuromuscular durante anestesia general. *Tesis doctoral*. Universidad de Valencia, Valencia (2015). Obtenida de: http://mobiroderic.uv.es/bitstream/handle/10550/44642/Tesis_definitiva_texto_estatico_MOD_PC.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acceso: Febrero, 2016.
127. McCoy ÉP, Mirakhur RK, Connolly FM, Loan PB. The influence of the duration of control stimulation on the onset and recovery of neuromuscular block. *Anesth Analg* 80: 364 – 367 (1995).
128. Mellinghoff H, Radbruch L, Diefenbach C, Buzello W. A comparison of cisatracurium and atracurium: Onset of neuromuscular block after bolus injection and recovery after subsequent infusion. *Anesth Analg* 83: 1072 – 1075 (1996).
129. Meyers EF. Partial recovery from pancuronium neuromuscular blockade following hydrocortisone administration. *Anesthesiology* 46: 148 – 150 (1977).
130. Michalska-Kranowska G. Anaphylactic reactions during anaesthesia and the perioperative period. *Anaesthesiol Intensive Ther* 44(2): 104 – 111 (2012).
131. Miller RD, Agoston S, Van Der Pol F, Booij LHDJ, Crul JF, Ham J. Hypothermia and the pharmacokinetics and pharmacodynamics of pancuronium in the cat. *J Pharmacol Exp Ther* 207(2): 532 – 538 (1978).
132. Miller RD, Rupp SM, Fisher DM, Cronnelly R, Fahey MR, Sohn YJ. Clinical pharmacology of vecuronium and atracurium. *Anesthesiology* 61: 444 – 453 (1984).
133. Miller RD, Way WL, Dolan WM, Sterens WC, Eger EI. Comparative neuromuscular effects of pancuronium, gallamine, and succinylcholine during forane and halotane anesthesia in man. *Anesthesiology* 35(5): 509 – 514 (1971).
134. Miller RM. Psychological effects of succinylcholine chloride immobilization on the horse. *Vet Med Small Anim Clin* 61(10): 941 – 943 (1966).

135. Morrell DF, Harrison GG. The screening of atracurium in mhs swine. *Br J Anaesth* 58: 444 – 446 (1986).
136. Motsch J, Hennis PJ, Zimmermann FA, Agoston S. A model for deteminating the influence of hepatic uptake of nondepolarizing muscle relaxants in the pig. *Anesthesiology* 70: 128 – 133 (1989).
137. Muir AW, Houston J, Marshall RJ, Bowman WC, Marshall IG. A comparison of the neuromuscular blocking and autonomic effects of two new short-acting muscle relaxants with those of succinylcholine in the anesthetized cat and pig. *Anesthesiology* 70: 533 – 540 (1989).
138. Muir AW, Marshall RJ. Comparative neuromuscular blocking effects of vecuronium, pancuronium, Org 6368 and suxamethonium in the anaesthetized domestic pig. *Br J Anaesth* 59: 622 – 629 (1987).
139. Murphy GS. Residual neuromuscular blockade: incidence, assessment, and relevance in the postoperative period. *Minerva Anesthesiol* 72: 97 – 109 (2006).
140. Naguib M, Flood P, McArdle JJ, Brenner HR. Advances in neurobiology of the neuromuscular junction. *Anesthesiology* 96: 202 – 231 (2002).
141. Naguib M, Lien CA. Pharmacology of muscle relaxants and their antagonists. *In: Miller's anesthesia*. Ed: Elsevier, Philadelphia. 481 – 572 (2005).
142. Naguib M, Lien CA, Aker J, Eliazo R. Posttetanic potentiation and fade in the response to titanic and train-of-four stimulation during succinylcholine-induced block. *Anesth Analg* 98: 1686 – 1691 (2004).
143. Naguib M, Samarkandi AH, Bakhamees HS, Magboul MA, El-Bakry AK. Comparative potency of steroidal neuromuscular blocking drugs and isobolographic analysis of the interaction between rocuronium and other aminosteroids. *Br J Anaesth* 75: 37 – 42 (1995a).
144. Naguib M, Samarkandi H, Bakhamees HS, Magboul MA, El-Bakry AK. Histamine-release haemodynamic changes produced by rocuronium, vecuronium, mivacurium, atracurium and tubocurarine. *Br J Anaesth* 75: 588 – 592 (1995b).
145. Nigrovic V, Fox JL. Atracurium decay and the formation of laudanosine in humans. *Anesthesiology* 74: 446 – 454 (1991).
146. Nilsson E, Meretoja OA. Vecuronium dose-response and maintenance requirements in patients with myasthenia gravis.

- Anesthesiology* 73: 28 – 32 (1990).
147. Ono K, Ohta Y, Morita K, Kosaka F. The influence of respiratory-induced acid-base changes on the action of non-depolarizing muscle relaxants in rats. *Anesthesiology* 68: 357 – 362 (1988).
148. Ornstein E, Lien CA, Matteo RS, Ostapkovich ND, Diaz J, Wolf KB. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of cisatracurium in geriatric surgical patients. *Anesthesiology* 84: 520 – 525 (1996).
149. Ornstein E, Matteo RS, Schwartz AE, Silverberg PA, Young WL, Diaz J. The effect of phenytoin on the magnitude and duration of neuromuscular block following atracurium or vecuronium. *Anesthesiology* 67: 191 – 196 (1987).
150. Parr SM, Robinson BJ, Rees D, Galletly DC. Interaction between betamethasone and vecuronium. *Br J Anaesth* 67: 447 – 451 (1991).
151. Paton WDM, Waud DR. The margin of safety of neuromuscular transmission. *J Physiol* 91: 59 – 90 (1967).
152. Paul M, Fokt RM, Kindler CH, Dipp NCJ, Yost S. Characterization of the interactions between volatile anesthetics and neuromuscular blockers at the muscle nicotinic acetylcholine receptor. *Anesth Analg* 95: 362 – 367 (2002).
153. Péréon Y, Bernard JM, The Tich SN, Genet R, Petitfaux F, Guihéneuc P. The effects of desflurane on the nervous system: from spinal cord to muscles. *Anesth Analg* 89: 490 – 495 (1999).
154. Pickett D. Curare in canine surgery. *JAVMA* 119(896): 346 – 353 (1951).
155. Pittet JF, Tassonyi E, Schopfer C, Morel DR, Mentha G, Fathi M, Le Coultre C, Steinig DA, Benakis A. Plasma concentrations of laudanosine, but not of atracurium, are increased during anhepatic phase of orthotopic liver transplantation in pigs. *Anesthesiology* 72: 145 – 152 (1990).
156. Plumb DC. In: *Plumb's veterinary drug handbook*. Ed: Wiley Blackwell, Iowa. 777 – 778 (2011a).
157. Plumb DC. In: *Plumb's veterinary drug handbook*. Ed: Wiley Blackwell, Iowa. 904 – 905 (2011b).
158. Potter LT. Synthesis, storage and release of [¹⁴C]Acetylcholine in isolated rat diaphragm muscles. *J Physiol* 206: 145 – 166 (1970).
159. Pumplin DW, Fambrough DM. Turnover of acetylcholine receptors in skeletal muscle. *Ann Rev Physiol* 44: 319 – 335 (1982).

160. Quinn DM. Acetylcholinesterase: enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition states. *Chem Rev* 87: 955 – 979 (1987).
161. Raftery MA, Hunkapiller MW, Strader CD. Acetylcholine receptor: complex of homologous subunits. *Science* 208: 1454 – 1456 (1980).
162. Ramsey FM, Lebowitz PW, Savarese JJ, Ali HH. Clinical characteristics of long-term succinylcholine neuromuscular block during balanced anesthesia. *Anesth Analg* 59: 110 – 116 (1980).
163. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ. Cómo actúan los fármacos: aspectos moleculares. En: *Rang y Dale Farmacología*. Ed. Elsevier, Barcelona. 24 – 54 (2008).
164. Reich DL, Hollinger I, Harrington DJ, Seiden HS, Chakravoti S, Cook R. Comparison of cisatracurium and vecuronium by infusion in neonates and small infants after congenital heart surgery. *Anesthesiology* 101: 1122 - 1127 (2004).
165. Rosenberg H, Davis M, James D, Pollock N, Stowell K. Malignant hyperthermia. *Orphanet J Rare Dis* 2: 21 – 35 (2007).
166. Ruiz JD. Factores fisiológicos que modifican la acción de los fármacos en medicina veterinaria. *Rev Col Cienc Pec* 14(1): 36 – 48 (2001).
167. Rupp SM, Miller RD, Gencarelli PJ. Vecuronium-induced neuromuscular blockade during enflurane, isoflurane, and halothane anesthesia in humans. *Anesthesiology* 60: 102 – 105 (1984).
168. Sakai DM, Martin-Flores M, Tomak EA, Martin MJ, Campoy L, Gleed RD. Differences between acceleromyography and electromyography during neuromuscular function monitoring in anesthetized Beagle dogs. *Vet Anaesth Analg* 42: 233 – 241 (2015).
169. Sanches-Bornia EC, Bando E, Machinski M Jr, Pereira MW, Alves-Do-Prado W. Presynaptic M1, M2, and A1 receptors play roles in tetanic fade induced by pancuronium or cisatracurium. *J Anesth* 23: 513 – 519 (2009).
170. Sanders WE Jr, Sanders CC. Toxicity of antibacterial agents: mechanisms of action on mammalian cells. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 19: 53 – 83 (1979).
171. Sarrafzadeh-Rezaei F, Clutton RE. The effect of volatile anaesthetics on the relative sensitivity of facial and distal thoracic limb muscles to vecuronium in dogs. *Vet Anaesth Analg* 36: 55 – 62 (2009).
172. Savage DS, Sleigh T, Carlyle I. The emergence of Org NC 45, 1-[(2 β ,3 α ,5 α ,16 β ,17 β)-3.17-bis(acetyloxy)-2-(1-

- piperidiny]-androstan-16-yl]-1-methylpiperidinium bromide, from the pancuronium series. *Br J Anaesth* 52(Supp1): 3S – 9S (1980).
173. Savarese JJ, Ali HH, Basta SJ, Embree PB, Scott RPF, Sunder N, Weakly JN, Wastila WB, El-Sayan HA. The clinical neuromuscular pharmacology of mivacurium chloride (BW B1090U). *Anesthesiology* 68: 723 – 732 (1988).
174. Schopfer C, Benakis A. Simplified method for the determination of atracurium and laudanosine in pig plasma by high-performance liquid chromatography and fluorimetric detection. *J Chromatogr* 526: 223 – 227 (1990).
175. Schopfer C, Pittet JF, Morel DR, Tassonyi E, Benakis A. Pharmacokinetics of atracurium besylate in the pig after a single i.v. injection. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 14(4): 299 – 302 (1989).
176. Schuster F, Johannsen S, Moegele S, Metterlein T, Roewer N, Anetseder M. The effect of succinylcholine on malignant hyperthermia events in susceptible swine. *BMC Anesthesiol* 14(14): doi:10.1186/1471-2253-14-14 (2014).
177. Scott RPF, Savarese JJ, Basta SJ, Sunder N, Ali HH, Gargarian M, Gionfriddo M, Batson AG. Atracurium: clinical strategies for preventing histamine release and attenuation the haemodynamic response. *Br J Anaesth* 57: 550 – 553 (1985).
178. Selzer ME, David G, Yaari Y. On the mechanism by which phenytoin blocks post-tetanic potentiation at the frog neuromuscular junction. *J Neurosci* 5(11): 2894 – 2899 (1985).
179. Sereinigg M, Stiegler P, Puntschart A, Seifert-Held T, Zmugg G, Wiederstein-Grasser I, Marte W, Marko T, Bradatsch A, Tscheliessnigg K, Stadlbauer-Köllner V. Establishing a brain-donor model in pigs. *Transplant Proc* 44: 2185 – 2189 (2012).
180. Shi Y, Hou V, Tucker A, Cohen J. Changes of extremity and laryngeal muscle electromyographic amplitudes after intravenous administration of vecuronium. *Laryngoscope* 118(12): 2156 – 2160 (2008).
181. Shields RG Jr, Mahan DC, Graham PL. Changes in swine body composition from birth to 145 kg. *J Anim Sci* 57(1): 43 – 54 (1983).
182. Shilo Y, Pypendop BH, Barter LS, Epstein SE. Thymoma removal in a cat with acquired myasthenia gravis: a case report and literature review of anesthetic techniques. *Vet Anaesth Analg* 38: 603 – 613 (2011).
183. Shorten GD, Gibbs NM. Dose-response relationship of

- atracurium besylate in the halothane-anaesthetised pig. *Res Vet Sci* 55:392 – 393 (1993).
184. Sigg DC, Iaizzo PA. Malignant hyperthermia phenotype: hypotension induced by succinylcholine in susceptible swine. *Anesthesiology* 92: 1777 – 1788 (2000).
185. Sinatra RS, Philip BK, Naulty JP, Ostheimer GW. Prolonged neuromuscular blockade with vecuronium in a patient treated with magnesium sulfate. *Anesth Analg* 64: 1220 – 1222 (1985).
186. Singh YN, Harvey AL, Marshall IG. Antibiotic-induced paralysis of the mouse phrenic nerve-hemidiaphragm preparation, and reversibility by calcium and neostigmine. *Anesthesiology* 48: 418 – 424 (1978).
187. Smith CE, Miert MM, Parker CJR, Hunter JM. A comparison of the infusion pharmacokinetics and pharmacodynamics of cisatracurium, the 1R-cis 1'R-cis isomer of atracurium, with atracurium besylate in healthy patients. *Anaesthesia* 52: 833 – 841 (1997).
188. Sokoll MD, Gergis SD. Antibiotics and neuromuscular function. *Anesthesiology* 55: 148 – 159 (1981).
189. Sorooshian SS, Stafford MA, Eastwood NB, Boyd AH, Hull CJ, Wright PMC. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cisatracurium in young and elderly adult patients. *Anesthesiology* 84: 1083 – 1091 (1996).
190. Spacek A, Neiger FX, Spiss CK, Kress HG. Chronic carbamazepine therapy does not influence mivacurium-induced neuromuscular block. *Br J Anaesth* 77: 500 – 502 (1996).
191. Staffieri F, Sleeper M, Iarenza MP. Increases in heart rate and systolic blood pressure in anesthetized dogs affected with X-linked muscular dystrophy after cisatracurium administration: a retrospective study. *Pediatr Anesth* 21: 900 – 906 (2011).
192. Standaert FG. Doughnuts and holes: molecules and muscle relaxants. *Can J Anaesth* 34(Supp1): S21 – S29 (1987).
193. Stanley JC, Mirakhur RK. Comparative potency of pipecuronium bromide and pancuronium bromide. *Br J Anaesth* 63: 754 – 755 (1989).
194. Sufit RL, Kreul JF, Bellay YM, Helmer P, Brunson DB, Will J. Doxacurium and mivacurium do not trigger malignant hyperthermia in susceptible swine. *Anesth Analg* 71: 285 – 287 (1990).
195. Suzuki T, Fukano N, Kitajima O, Saeki S, Ogawa S. Normalization of acceleromyographic train-of-four ratio by baseline value for detecting residual

- neuromuscular block. *Br J Anaesth* 96: 44 – 47 (2006).
196. Tateishi A, Zornow MH, Scheller MS, Canfell PC. Electroencephalographic effects of laudanose in an animal model of epilepsy. *Br J Anaesth* 62: 548 – 552 (1989).
197. Telivuo L, Katz RL. The effects of modern intravenous local analgesics on respiration during partial neuromuscular block in man. *Anaesthesia* 25(1): 30 – 35 (1970).
198. Tran T, Fiset P, Varin F. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cisatracurium after a short infusion in patients under propofol anesthesia. *Anesth Analg* 87: 1158 – 1163 (1998).
199. Tranquilli WJ, Grimm KA. Introduction: Use, definitions, history, concepts, classification, and considerations for anesthesia and analgesia. In: *Veterinary anesthesia and analgesia*. Ed. Wiley-Blackwell, Oxford. 3 - 10 (2015).
200. Usdin TB, Eiden LE, Bonner TI, Erickson JD. Molecular biology of the vesicular Ach transporter. *Trends Neurosci* 18: 218 – 224 (1995).
201. Van Kempen GTH, Molenaar PC, Slater CR. Release and synthesis of acetylcholine at ectopic neuromuscular junctions in the rat. *J Physiol* 478(2): 229 – 238 (1994).
202. Viby-Mogensen J. Correlation of succinylcholine duration of action with plasma cholinesterase activity in subjects with the genotypically normal enzyme. *Anesthesiology* 53: 517 – 520 (1980).
203. Viby-Mogensen J, Howardy-Hansen P, Chræmmer-Jørgensen B, Ørding H, Engbæk J, Nielsen A. Posttetanic count (PTC): a new method of evaluating an intense nondepolarizing neuromuscular blockade. *Anesthesiology* 55: 458 – 461 (1981).
204. Viby-Mogensen J, Jørgensen BC, Ørding H. Residual curarization in the recovery room. *Anesthesiology* 50: 539 – 541 (1979).
205. Viby-Mogensen J, Østergaard D, Donati F, Fisher D, Hunter J, Kampmann JP, Kopman A, Proost JH, Rasmussen SN, Skovgaard LT, Varin F, Wright PMC. Pharmacokinetic studies of neuromuscular blocking agents: Good Clinical Research Practice (GCRP). *Acta Anaesthesiol Scand* 44: 1169 – 1190 (2000).
206. Ward S, Neill EAM. Pharmacokinetics of atracurium in acute hepatic failure (with acute renal failure). *Br J Anaesth* 55: 1169 – 1172 (1983).
207. Wastila WB, Maehr RB, Turner GL, Hill DA, Phil M, Savarese JJ. Comparative pharmacology of cisatracurium (51W89), atracurium and five isomers in

- cats. *Anesthesiology* 85: 169 – 177 (1996).
208. Waud BE, Waud DR. Interaction of calcium and potassium with neuromuscular blocking agents. *Br J Anaesth* 52: 863 – 866 (1980).
209. Weindlmayr-Goettel M, Gilly H, Kress HG. Does ester hydrolysis change the in vitro degradation rate of cisatracurium and atracurium?. *Br J Anaesth* 88(4): 555 – 562 (2002).
210. Weiskopf RB, Eger II EI, Holmes MA, Yasuda N, Johnson BH, Targ AG, Rampil IJ. Cardiovascular actions of common anesthetic adjuvants during desflurane (I-653) and isoflurane anesthesia in swine. *Anesth Analg* 71: 144 – 148 (1990).
211. Welch RM, Brown MBA, Ravitch J, Dahl R. The in vitro degradation of cisatracurium, the R, cis-R'-isomer of atracurium, in human and rat plasma. *Clin Pharmacol Ther* 58(2): 132 – 142 (1995).
212. Wessler I, Kirkpatrick CJ, Racké K. The cholinergic 'pitfall': acetylcholine, a universal cell molecule in biological systems, including humans. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 26: 198 – 205 (1999).
213. Westra P, Houwertjes MC, Wesseling H, Meijer DKF. Bile salts and neuromuscular blocking agents. *Br J Anaesth* 53: 407 – 415 (1981).
214. Whittaker VP. The storage and release of acetylcholine. *Proc Biochem Soc* 73 – 74 (1972).
215. Wierda JMKH, De Wit APM, Kuizenga K, Agoston S. Clinical observations on the neuromuscular blocking action of Org 9426, a new steroidal non-depolarizing agent. *Br J Anaesth* 64: 521 – 523 (1990).
216. Wilbanks BA, Wakim J, Daicoff B, Monterde S. Hyperkalemia-induced residual neuromuscular blockade: a case report. *AANA J* 73: 437 – 441 (2005).
217. Wright JM, Collier B. Characterization of the neuromuscular block produced by clindamycin and lincomycin. *Can J Physiol Pharmacol* 54(6): 937 – 944 (1976).
218. Wulf H, Kahl M, Ledowski T. Augmentation of the neuromuscular blocking effects of cisatracurium during desflurane, sevoflurane, isoflurane or total i.v. anaesthesia. *Br J Anaesth* 80: 308 – 312 (1998).
219. Yoon SH, Bang JY, Seo H, Song JG. Sudden cardiovascular collapse caused by severe anaphylaxis after cisatracurium use: a case report. *Korean J Anesthesiol* 67(6): 412 – 415 (2014).
220. Yost CS, Winegar BD. Potency of agonists and competitive antagonists on adult- and fetal-type nicotinic acetylcholine

receptors. *Cell Mol Neurobiol*
17(1): 35 – 50 (1997).

