



PRÁCTICA 1:

ASPECTOS GENERALES DEL MANEJO DE ANIMALES DE LABORATORIO Y VÍAS DE ADMINISTRACIÓN

Fisiología celular
ENCB IPN



RESULTADOS

a) Temperatura colonal

Vía intragástrica (IG)

Tiempo (min)	Equipo 1	Equipo 2	Equipo 3	Equipo 4	Equipo 5	Equipo 6	Equipo 7	Equipo 8
0 (basal)	38.5	39	38.5	37.9	38.3	38.2	38.9	38.1
5	38	38.7	38.2	38.4	38.9	38.4	37.8	38.2
10	38.5	38.2	38.2	38.8	38.3	37.6	38.2	37.9
15	37.9	38.1	38.3	37.8	38.1	37.6	38	37.8
20	37.8	37.5	38	37.7	37.7	37.5	38.1	37.5
25	37	37.4	37.8	37.2	37.7	37	38	37.1

Vía intraperitoneal (IP)

Tiempo (min)	Equipo 1	Equipo 2	Equipo 3	Equipo 4	Equipo 5	Equipo 6	Equipo 7	Equipo 8
0 (basal)	39.1	38.5	38.3	38.3	38.5	38.5	38.4	38.4
5	37.9	37.2	37	35.9	36.2	36.7	35.9	36.2
10	35.5	36	35.9	36.2	36.6	35.5	35	36.4
15	35.2	36.4	35.3	36.3	35.1	36	36	35.5
20	34.5	35.2	35.9	35.5	34.8	34.9	35	35
25	34.2	35	35.3	34.9	35.9	34.4	34.8	34.2

Vía subcutánea (IC)

Tiempo (min)	Equipo 1	Equipo 2	Equipo 3	Equipo 4	Equipo 5	Equipo 6	Equipo 7	Equipo 8
0 (basal)	39	38.2	38.8	38.2	37.8	38.5	38.1	37.6
5	37.9	37.2	37.8	37.9	38.2	38.5	37.2	37.1
10	36.9	36.1	37.2	37.7	37.5	36.5	36.1	36.6
15	36.2	37.4	35.9	37.5	36.2	37.1	37.1	36.5
20	35.5	36	36.9	36.6	35.7	36	36.2	36.2
25	36	37.2	36.9	36.5	36.6	35.2	36	36.3

b) Reflejos de enderezamiento (E) y flexor (F). Presencia (0) o ausencia (1)

Vía intragástrica (IG)

Tiempo	Equipo 1		Equipo 2		Equipo 3		Equipo 4		Equipo 5		Equipo 6		Equipo 7		Equipo 8	
(min)	E	F	E	F	E	F	E	F	E	F	E	F	E	F	E	F
0 (basal)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
15	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
20	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
25	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0

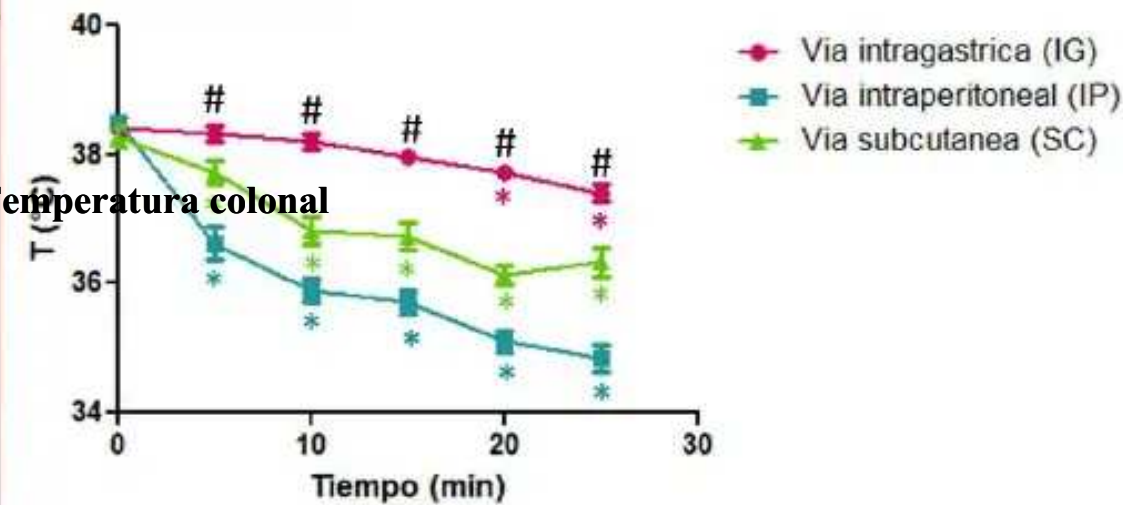
Vía intraperitoneal (IP)

Tiempo	Equipo 1		Equipo 2		Equipo 3		Equipo 4		Equipo 5		Equipo 6		Equipo 7		Equipo 8	
(min)	E	F	E	F	E	F	E	F	E	F	E	F	E	F	E	F
0 (basal)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
10	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
15	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0
20	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0
25	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Vía subcutánea (SC)

Tiempo	Equipo 1		Equipo 2		Equipo 3		Equipo 4		Equipo 5		Equipo 6		Equipo 7		Equipo 8	
(min)	E	F	E	F	E	F	E	F	E	F	E	F	E	F	E	F
0 (basal)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
15	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
20	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
25	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0

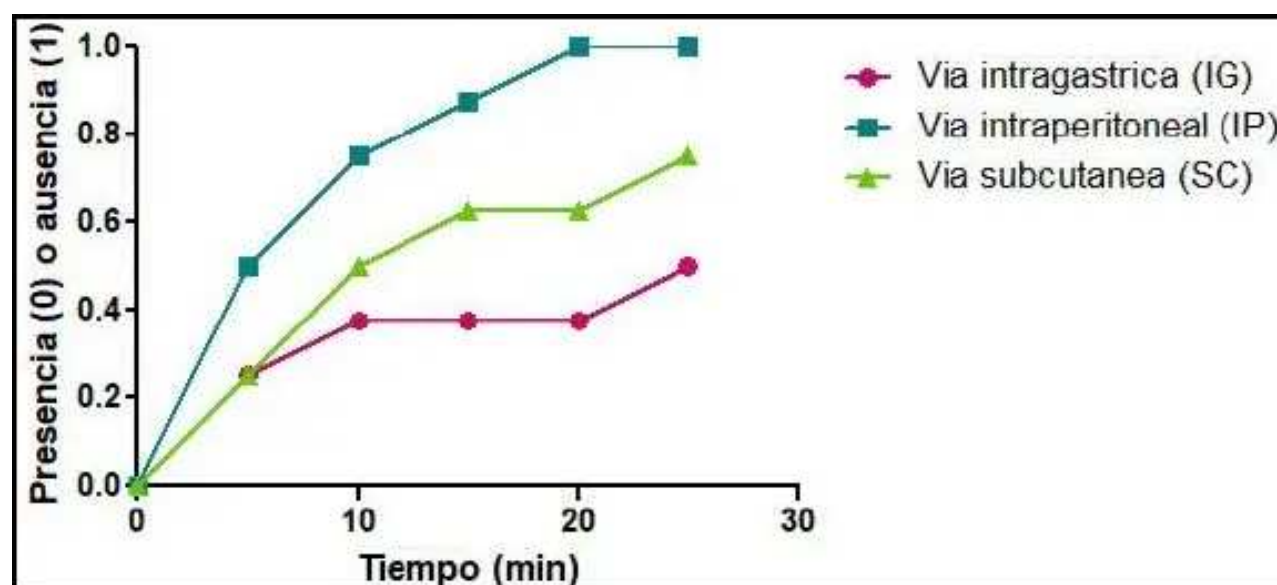
a) Temperatura colonal



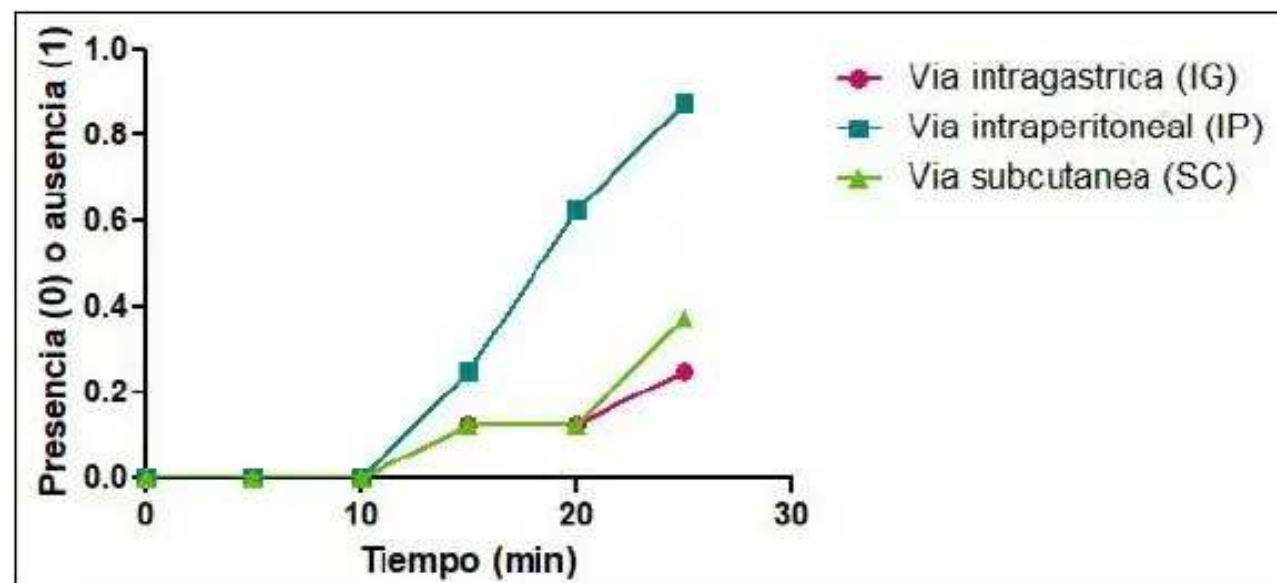
Indica diferencias significativas entre las diferentes vías al mismo tiempo

Gráfica 1: Temperatura colonal con ANOVA bifactorial de medidas repetidas ($P < 0.05$)

b) Reflejos de enderezamiento (E) y flexor (F)



Gráfica 2: Reflejo de enderezamiento (E)



Gráfica 3: Reflejo flexor (F)

ANALISIS DE RESULTADOS

a) Temperatura colonal

A simple vista, podemos ver en la *Grafica 1* que la vía intraperitoneal es la más efectiva ya que, a los 25 minutos de haber administrado Pentobarbital, la temperatura colonal había disminuido ya a 34.837°C (en promedio), mientras que en la vía subcutánea disminuyó a 36.337° (en promedio), y en la vía intragástrica disminuyó solo a 34.837°C (en promedio).

Para una estadística más detallada se realizó un análisis estadístico inferencial: ANOVA bifactorial de medidas repetidas, para detectar diferencias entre las 3 vías (IG, IP, SC) respecto al tiempo, en la temperatura colonal. Se puede observar que hay diferencias significativas entre las 3 vías al mismo tiempo, en los minutos 5, 10, 15, 20 y 25, excepto en el basal (0), pues en el minuto cero apenas se había administrado el fármaco y aun no se nota su efecto. En la vía IG se puede observar que solo hay diferencias significativas en el minuto 20 y 25 respecto al minuto 0 (basal), lo que indica que en esta vía la latencia es 20 (latencia baja). Mientras que en las vías IP y SC hay diferencias significativas en los minutos 5, 10, 15, 20 y 25 con respecto al minuto 0, lo que indica que la latencia en ambas vías es de 5 (latencia alta), es decir que el pentobarbital no tarda en hacer efecto a través de estas dos últimas vías.

La **vía IP** tiene una buena latencia y disminuye considerablemente la temperatura colonal de la rata, esto debido a que esta zona de aplicación posee una gran vascularización, lo que permite que el pentobarbital pase rápidamente al sistema sanguíneo y pueda así acceder con eficacia al sistema nervioso central, específicamente al hipotálamo (es el “termostato de los vertebrados”).

La **vía SC** tiene una buena latencia, la misma que la vía IP, sin embargo, no disminuye tanto la temperatura colonal como en la vía IP. La razón es porque esta zona de aplicación es una zona con vasos sanguíneos de calibre pequeño, además de que tiene que atravesar barreras anatómicas, en este caso tiene que atravesar la piel para poder llegar al sistema circulatorio, ocasionando que la temperatura colonal no disminuya tanto como en la vía IP. Los fármacos tendrían que ser extremadamente liposolubles para poder absorberse.

La **vía IG**, no tiene buena latencia y la temperatura colonal casi no disminuye. El pentobarbital, al llegar al estómago, se enfrenta con los jugos gástricos (HCl) que tienen un

pH muy ácido y puede afectar a la efectividad del fármaco. Además, a pesar de que el pentobarbital pasa por el intestino delgado, principal órgano de absorción, antes pasa por el hígado en donde es metabolizado por las enzimas hepáticas y cierta cantidad de fármaco es modificada y, por tanto, pierde su actividad farmacológica, disminuyendo así la cantidad disponible para actuar.

b) Reflejos de enderezamiento (E) y flexor (F)

Observando la *Grafica 2*, se puede apreciar que el **reflejo de enderezamiento (E)** por vía intraperitoneal es ausente casi al 100%, pues la tendencia en la gráfica es hacia el 1 (ausencia del reflejo), a partir de los 20 min aproximadamente. Por otro lado, por la vía subcutánea no se alcanza el 100% de ausencia del reflejo de enderezamiento, esta aproximadamente al 50%. Mientras que por la vía intragástrica es mucho menos la ausencia del efecto flexor, menos del 50%. La ausencia del reflejo de enderezamiento nos permite observar el efecto hipnótico del pentobarbital, es decir, si el fármaco realiza su actividad farmacológica correctamente dentro del organismo de la rata, el animal se verá sometido al efecto hipnótico reflejándolo como si estuviera dormido, pues no es capaz de enderezarse por sí solo. Esto sucede porque el pentobarbital disminuye la transmisión de acetilcolina y aumenta la transmisión de neurotransmisores inhibidores, que son los que actúan sobre receptores asociados a canales iónicos, abren canales de cloro, producen una hiperpolarización de la membrana post sináptica y disminuyen la actividad neuronal, dejando a la rata en un estado de inconsciencia semejante al sueño con pérdida parcial de la conciencia.

En el **reflejo flexor (F)** la vía más eficaz también es la intraperitoneal pues, a partir de los 10 minutos se observa que rápidamente disminuye este reflejo, mientras que en las vías intragástrica y subcutánea casi ni se nota la ausencia del reflejo. La ausencia de este reflejo nos demuestra el efecto anestésico del pentobarbital, es decir, la ausencia temporal de la sensibilidad de una parte del cuerpo o de su totalidad, y por eso no hay respuesta de un estímulo de dolor. Su acción fundamental es la depresión no selectiva del sistema nervioso central (parálisis descendente), que según la dosis puede ir desde la sedación hasta la anestesia (estado de inconsciencia e insensibilidad reversible, sin alterar las funciones vitales) o el coma, y aun la muerte por parálisis del centro respiratorio. Esto sucede debido a que el fármaco bloquea la génesis y propagación de los impulsos eléctricos en tejidos eléctricamente excitables como el tejido nervioso. Al llegar un estímulo nervioso, se inicia la despolarización de la membrana. El campo eléctrico generado activa los canales de sodio (estado activo), lo que permite el paso a su través de iones Na^+ , que masivamente pasa al medio intracelular. La negatividad del potencial transmembranal se hace positiva, de unos 10 mV. Cuando la membrana está despolarizada al máximo, disminuye la permeabilidad del canal de sodio, cesando el paso por él de iones Na^+ (estado inactivo). Entonces, el canal de potasio aumenta su permeabilidad, pasando este ion por gradiente de concentración, del interior al exterior. Posteriormente se produce una restauración a la fase inicial. Los iones son transportados mediante la bomba Na-K, el Na^+ hacia el exterior y el K^+ hacia el

interior. Es la repolarización de la membrana, pasando el canal de sodio de estado inactivo a estado de reposo. Estos movimientos iónicos se traducen en cambios en el potencial eléctrico transmembrana, dando lugar al llamado potencial de acción, que se propaga a lo largo de la fibra nerviosa. El pentobarbital la propagación del impulso nervioso disminuyendo la permeabilidad del canal de sodio, bloqueando la fase inicial del potencial de acción. Esto explica el bloqueo de fibras sensitivas de dolor.

Aquí podemos comprobar nuevamente que las zonas de aplicación de las vías IG y SC se encuentra lejos de un vaso sanguíneo, mientras que la zona de aplicación de la vía IP posee una gran vascularización, permitiendo que el fármaco tenga un efecto mayor en la rata.

conclusiones

Se llegaron a las siguientes conclusiones en la administración de pentobarbital en ratas, por 3 vías diferentes (intragástrica, intraperitoneal, subcutánea):

- La vía intraperitoneal es la vía más rápida y la más eficaz.
- La vía subcutánea es la vía más lenta que la intraperitoneal, pero tiene la misma intensidad que la intraperitoneal.
- La vía intragástrica es la más lenta y la menos eficaz.

bibliografía

- Fuentes Paredes, F. D. M., Mendoza Yanavilca, R. A., Rosales Fernández, A. L., & Cisneros Tarmeño, R. A. (2010). Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón
- Aguilar, A. M. O., Aguilar, A. R. O., & Maldonado, R. M. H. (2010). La responsabilidad ética en la investigación científica con animales de laboratorio. REDVET. Revista electrónica de Veterinaria, 11(1), 1-5
- NOM-062-ZOO-1999, N. O. M., & LA PRODUCCION, E. T. P. (1999). Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio
- Ernesto Raul Torrez Veliz. (2012). Manejo de animales de laboratorio y técnicas de administración de fármacos o extractos. 9/02/2020, de Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Wiener Sitio web: https://issuu.com/susanact/docs/manejo_de_animales_de_experimentaci_n_y_tecnicas_d