
Técnicas de anestesia y su incidencia en los resultados experimentales

Ignacio Alvarez Gómez de Segura

Servicio de Cirugía Experimental. Hospital "La Paz". Madrid

Incidencia de la técnica anestésica en los resultados experimentales

La técnica anestésica engloba no solo el período en el que un animal está anestesiado (inconsciente), sino los preparativos que tienden a reducir el riesgo de esta (Preanestesia), y las consecuencias inmediatas de la misma y su relación con el procedimiento realizado (recuperación anestésica y postoperatorio). El objetivo de la anestesia del animal de laboratorio es favorecer el desarrollo de un modelo experimental que pueda ser doloroso o incómodo para el animal proporcionando un medio éticamente humanitario que reduzca al mínimo el sufrimiento físico y psíquico del mismo.

La anestesia suele favorecer la manipulación del animal, proporcionando inmovilidad, y cierto grado de relajación muscular. La hipnosis, o sueño, y la analgesia son los componentes principales de la anestesia, que inhiben la percepción dolorosa -física y psíquica- por parte del animal, reduciendo las consecuencias derivadas de la agresión quirúrgica.

El estrés que padece un animal como consecuencia de una manipulación inadecuada es una de las variables ocultas que más pueden afectar a los resultados de una experiencia. El error en la manipulación abarca desde un manejo poco cuidadoso del animal, una selección inadecuada de las técnicas de tranquilización, inducción y mantenimiento anestésico, hasta una falta de cuidados en el período postoperatorio. La prevención y tratamiento adecuado del dolor es una de las prioridades de un buen protocolo anestésico, al ser aquel una de las principales fuentes de alteración de la homeostasis del animal, pero no la única que debemos tener en cuenta.

La selección de una técnica anestésica adecuada a cada especie y procedimiento tiende a cumplir los objetivos de manejo humanitario de los animales, ausencia de complicaciones derivadas de la anestesia y mínima interferencia en el experimento, que suele implicar que el animal recupere su normalidad fisiológica lo antes posible. Una recuperación anestésica prolongada es una de las complicaciones típicas en los animales de experimentación, y se halla particularmente afectada por la ausencia de cuidados postoperatorios que el investigador es capaz de proporcionar. En roedores, las razones habituales son la hipotermia o la mala elección del anestésico, y que suelen producir la muerte y engrosan la lista de animales utilizados, pero no incluidos, en nuestro estudio. Evidentemente estas complicaciones, evitables

en su mayoría, no solo afectan al animal, sino también a la experiencia, requiriendo un incremento del número de animales y aumentando los costes económicos y personales.

Un ejemplo del ahorro "animal y material" de la técnica anestésica es la realización de dos trabajos que utilizaron un modelo de resección intestinal en la rata lactante de 15 días de vida. En uno de ellos un investigador obtuvo una mortalidad intraoperatoria cercana al 50% en las primeras 24 horas de postoperatorio utilizando una anestesia a base de éter. Las muertes se produjeron fundamentalmente en el período postoperatorio. En el otro trabajo, otro investigador, con una experiencia similar, obtuvo una mortalidad del 0% en las primeras 24 horas de postoperatorio. El anestésico utilizado en este segundo trabajo fue el isoflurano. Las diferencias fueron achacadas exclusivamente a la técnica anestésica utilizada.

Una complicación ampliamente estudiada por el Dr. Flecknell es el descenso de la ingesta en el postoperatorio y demuestra que los animales sometidos a una mala recuperación ingieren una menor cantidad de agua y comida en las primeras 24-48 horas. Este efecto ocurre aún cuando los animales parecen totalmente recuperados del procedimiento realizado y suelen deberse a dolor. La administración de analgesia durante 12-24 horas reduce considerablemente la inapetencia de estos animales. De forma similar, un animal que no come o bebe en 24-48 horas, que desarrolla una hipotermia grave, o acidosis respiratoria, o hipoxia, difícilmente puede considerarse un buen modelo animal.

La cirugía provoca estrés proporcional a la gravedad de la agresión. Este mecanismo de defensa modifica el metabolismo y favorece la movilización de sustratos como la glucosa. Actualmente se considera que estas modificaciones no son necesarias en pacientes que reciben unos cuidados intraoperatorios y postoperatorios adecuados, dado que estos no existen en condiciones naturales de agresión. Las alteraciones derivadas de una respuesta de estrés incluyen elevaciones de corticosteroides que persisten varios días, modificaciones del ritmo circadiano y hormonales que pueden prolongarse varias semanas. En general la cirugía va a producir un efecto desestabilizante muy superior a la anestesia de forma que cualquier técnica que reduzca la respuesta al daño quirúrgico va a mejorar globalmente el estado del animal y los resultados de la experiencia. Existen datos

objetivos para afirmar que la elección de una técnica anestésica adecuada no solo beneficia al animal minimizando su sufrimiento, sino también a la fiabilidad de este como reactivo biológico para experimentación.

La técnica anestésica en el animal de laboratorio

Preanestesia - Manejo preoperatorio

La primera consideración que debe hacerse a todo animal que vaya a ser anestesiado es la verificación de su estado de salud. Asumiendo que la experiencia requiera de animales sanos, las razones de este control por el investigador son evidentes. Aún así algunas patologías pueden ser consideradas leves e irrelevantes para la obtención de los resultados obtenidos. En este caso debe plantearse el riesgo que puede suponer la superposición de dichas patologías a la realización de una técnica anestésica, p.e. la realización de una anestesia a un animal deprimido y deshidratado, para la obtención de una biopsia hepática puede estar facilitada por un manejo más fácil del animal pero requiere una reducción considerable en el número y dosis de fármacos a administrar. No podemos aplicar a estos animales la misma técnica que a un animal sano sino con un riesgo anestésico muy elevado. Las alteraciones del modelo experimental pueden requerir varios días hasta su normalización e incluso pueden resultar irreversibles. La realización de controles rutinarios permite establecer los estándares en nuestro centro de investigación, ateniéndonos a criterios objetivos para valorar nuestros animales. Los controles laboratoriales (bioquímica, hematología, etc.) son útiles tanto *a priori* como *a posteriori* y nos permiten tomar decisiones no solo sobre un animal concreto, sino sobre una población a la que pertenece. En los roedores, la posibilidad de obtención de datos de control basal suelen basarse en los controles realizados por los diferentes proyectos de investigación.

El período de aclimatación de los animales debe mantenerse para no acumular al estrés que la falta de este período produce al de la anestesia. Además, resulta la forma más fiable de comprobar el estado de salud de un animal. Un animal estresado mostrará alteraciones en los parámetros bioquímicos o hematológicos (p.e. leucocitosis), y también la respuesta inmunitaria estará reducida favoreciendo la aparición de infección. En algunos casos la falta de aclimatación de algunos animales (p.e. miedo, agresividad) puede relegar su utilización especialmente en procedimientos crónicos, evitando someterle a una anestesia y cirugía.

En la mayoría de los animales de tamaño medio (perros, gatos, cerdos, ovejas y monos) es suficiente un período de ayuno de sólidos de 12 horas, es decir, basta con retirar el alimento la noche anterior a la cirugía. En los ruminantes es necesario aplicar una sonda ruminal, además del tubo endotraqueal, durante la

anestesia para facilitar la salida de gases y contenido ruminal durante la anestesia. En roedores y conejos no es necesario. Sólo en casos de cirugía digestiva es necesario ampliar este período en ambos casos.

El manejo por parte de personal previamente entrenado tiende a considerarse actualmente como una obligación. Gran parte del estrés inducido durante la inducción anestésica está relacionado con un manejo inadecuado de los animales que además dificulta el mismo. Este problema es especialmente importante en los investigadores noveles que carecen de experiencia en el manejo de animales. La implantación de cursos periódicos, como cursos de doctorado de manejo de animales de laboratorio u otros similares deben ser implantados de forma rutinaria y con carácter anual, o hasta que exista una legislación que lo requiera, tal y como ocurre en otros países.

La administración de tranquilizantes u otro tipo de medicación anestésica se debe plantear como una ventaja tanto para el animal como para el investigador y su experiencia. No se recomienda su uso rutinario sino aplicado a cada experiencia concreta. En general, especies como perro, gato y oveja son poco reacios a una manipulación adecuada que permita la administración de un agente anestésico intravenoso. En otras especies como el cerdo esto resulta casi imposible en la práctica sin la aplicación de un potente tranquilizante. Existen casos concretos en los que debe reducirse al mínimo la cantidad de fármacos administrados para evitar su interferencia sobre la experiencia, o al menos considerarla como consecuencia de un único fármaco p.e. casi todos los anestésicos y tranquilizantes poseen efectos cardiovasculares y respiratorios. En estos casos es recomendable la inducción y mantenimiento anestésico con un único agente como es el uretano IV o el isoflurano inhalatorio.

La administración de atropina tampoco debe ser una rutina en la premedicación anestésica. Está especialmente indicado para reducir la aparición de secreciones bronquiales y salivares, especialmente tras la administración de ketamina (Ketolar®) o tiletamina (Zoletil®). El aumento de secreciones resulta más peligroso cuanto menor es el tamaño del animal. La atropina tiene efectos vagolíticos que afectan principalmente al corazón. En los ruminantes disminuyen la motilidad intestinal sin que tengan un efecto claro en la disminución de secreciones.

Organizativamente deben evitarse las intervenciones hacia el final de la mañana o por la tarde, garantizando los máximos cuidados por parte del personal. Igualmente debe evitarse la realización de cirugía complicada hacia el final de la semana, evitando la necesidad de cuidados postoperatorios durante el fin de semana. El equipo anestésico (material y fármacos) necesario debe estar preparado para cubrir imprevistos (p.e. balas de oxígeno y vaporizador de anestésico llenos, etc.) así como comprobar el funcionamiento del equipo antes de iniciar la experiencia. Deben evitarse situaciones que

requieren sacrificar a un animal anestesiado e intervenido porque el material de investigación no funciona correctamente.

Inducción y mantenimiento anestésico

La mayoría de los investigadores utilizan los fármacos anestésicos basándose en protocolos previamente descritos en publicaciones de prestigio, sin reparar en la idoneidad de dicha elección. Afortunadamente, el conocimiento sobre los efectos de los anestésicos es cada vez mejor y los laboratorios actuales tienden a aplicar técnicas más modernas que incluyen nuevos fármacos. Existen líneas de investigación, llevadas a cabo por diferentes grupos de trabajo en todo el mundo, que utilizan una técnica validada por muchos años de trabajo. Es posible que dicha técnica no sea la mejor, pero que otras potencialmente mejores no sean aceptables por su influencia negativa sobre la experiencia p.e. el isoflurano puede modificar la respuesta neurofisiológica cerebral a la isquemia no ocurriendo lo mismo con el uretano. Esto ocurre en relativamente pocos casos, y en la mayoría de los casos una técnica anestésica es utilizada sencillamente por que la utilizan otros, aún cuando los fármacos no se encuentran disponibles en España (Saffan®, Innovar-Vet®, etc.), o porque es la utilizada previamente en otros experimentos. Bajo esta perspectiva, un experimento realizado con una técnica inadecuada tendrá unos resultados falseados, que podemos perpetuar si la seguimos utilizando. Un vicio común de muchos laboratorios de investigación es la utilización de una determinada técnica anestésica sencillamente porque es la que lleva practicando desde hace muchos años y "funciona muy bien". Pero no debe despreciarse la experiencia adquirida que hace que una mala técnica anestésica sea más segura que otra técnicamente mejor pero no practicada. La implantación de cursos de actualización y la mayor comunicación entre los investigadores ha facilitado el conocimiento y manejo adecuado de nuevas técnicas anestésicas, así como la influencia que tiene cada una de ellas sobre el animal y, por tanto, sobre la investigación.

Es posible que la técnica anestésica no sea adecuada a la experiencia pero que ello no afecte el ánimo del investigador. El peligro radica en que los evaluadores de trabajos científicos son cada vez más críticos con el método utilizado en la investigación, y considerar que los resultados pueden estar enmascarados u oscurecidos por una técnica anestésica no apropiada; p.e. fármacos como la ketamina o la tiletamina o los tranquilizantes agonistas de los receptores adrenérgicos alfa-2 producen hiperglucemia y pueden invalidar un estudio centrado en este azúcar. La incorrecta utilización de los fármacos anestésicos es una causa frecuente de error; un defecto común se basa en la mala apreciación del plano anestésico del animal, que producirá estrés y dolor si es muy ligero, o

depresión cardiovascular y respiratoria si es muy profundo. Si la duración del período anestésico se va a prolongar por un período de tiempo superior a la hora, suele ser recomendable la utilización de anestésicos inhalatorios que mantienen un plano anestésico estable. La utilización de fármacos inyectables requiere el conocimiento de su farmacocinética, es decir, la duración media del efecto anestésico del fármaco, para prevenir que los niveles plasmáticos desciendan demasiado. Los efectos secundarios de los anestésicos son muchas veces muy marcados debido a su mala aplicación más que al fármaco en sí.

A la hora de elegir la técnica anestésica y los fármacos a utilizar, deben considerarse factores como el objeto y naturaleza del procedimiento a realizar bajo anestesia, la duración, gravedad y lugar del procedimiento quirúrgico, la especie animal y sus características individuales, los medios disponibles en nuestro laboratorio y el coste (McDonell, 1975):

El objeto y naturaleza del procedimiento a realizar bajo anestesia modifica considerablemente la técnica utilizada. Si la obtención de los datos experimentales no es inmediata y permite la recuperación completa de la anestesia, la técnica utilizada importa poco, siempre que se asegure una ausencia de dolor y estrés. Es el momento aconsejado para probar nuevos fármacos anestésicos. El caso opuesto lo constituyen los estudios fisiológicos y farmacológicos, en los que la utilización de fármacos debe ser la mínima que permita un trato humanitario de los animales. En estos casos deben minimizarse los efectos de los anestésicos sobre el organismo, así como la interacción con el objeto del estudio. La utilización de un único fármaco es la técnica más recomendable; el propofol (diprivan®) en infusión continua puede ser adecuado por vía intravenosa y el isoflurano (Forane®) o halotano (Fluothane®) por vía inhalatoria.

Los anestésicos acumulativos o de lenta eliminación (barbitúricos) no son aconsejables en intervenciones prolongadas, especialmente si se quieren obtener resultados durante la recuperación anestésica. Algunos fármacos como el tiopental sódico producen efectos cardiorespiratorios detectables hasta dos horas después de la finalización de la anestesia tras la administración de una sola dosis de este fármaco. Otros fármacos como el uretano o la alfa-cloralosa producen una anestesia prolongada (hasta 10 horas) pero superficial, que no permite intervenciones muy dolorosas. A medio plazo, estos agentes son tóxicos tisulares y producen una elevada mortalidad que los hace adecuados solo para experiencias agudas, es decir, aquellas en las que el animal es sacrificado inmediatamente o poco después de la anestesia. La severidad del daño quirúrgico aconseja la utilización de analgésicos intraoperatorios y postoperatorios potentes (opiáceos: fentanilo, meperidina, buprenorfina).

La cirugía complicada (cardíaca, trasplantes, etc.) solo puede realizarse adecuadamente utilizando técnicas de anestesia equilibrada que normalmente

requieren una persona que actúe como anestésista. En estos casos se utilizan fármacos de acción muy selectiva y con pocos efectos secundarios. Estos incluyen hipnóticos que inducen sueño (propofol, ketamina, o los anestésicos inhalatorios a bajas dosis), analgésicos potentes que eliminan la percepción dolorosa (fentanilo, meperidina) y relajantes musculares que facilitan la manipulación quirúrgica y la ventilación controlada (atracurio, vecuronio, pancuronio y succinilcolina). Por supuesto, la utilización de ventilación controlada requiere la implantación de ventilación artificial, siendo más aconsejable la utilización de relajantes musculares cuanto mayor sea el tamaño del animal.

La especie animal condiciona considerablemente la técnica anestésica. Teóricamente puede afirmarse que cada especie tiene sus técnicas anestésicas, aunque en la práctica en casi todas utilizaremos, o podemos utilizar, los mismos fármacos y sus combinaciones. Una diferencia entre especies es la dosis necesaria de fármaco, mayor cuanto menor es el tamaño del animal sobre la base de mg/kg, pero proporcional a su metabolismo. Igualmente en la práctica resulta más fácil determinar las características de especie que condicionan la técnica anestésica utilizada; en el perro, gato y oveja puede utilizarse una inducción anestésica a base de tiopental sódico seguida de un mantenimiento con anestésicos inhalatorios. La ketamina es otra opción válida que también puede aplicarse a conejos y roedores si se acompaña de benzodiazepinas (diazepam-valium®) y/o agonistas de los receptores adrenérgicos alfa-2 (xilacina-rompun®, medetomidina-domitor®). Los roedores pueden ser inducidos y mantenidos anestésicamente con isoflurano; la inducción se produce en unos 15-20 segundos y con un estrés mínimo. Los cerdos, dado su carácter, suelen precisar de la administración intramuscular de un tranquilizante o, aún mejor, de un anestésico por esta vía, como la ketamina asociada a benzodiazepinas y agonistas de los receptores adrenérgicos alfa-2. Algunos fármacos están contraindicados. En el cerdo la succinilcolina o los anestésicos inhalatorios halogenados (isoflurano, halotano) pueden producir hipertermia maligna y la muerte en pocos minutos. En el perro la utilización de ketamina no asociada a benzodiazepinas provoca mioclonías y vocalización. En el gato la dosis de morfina es la décima parte de la aconsejada en el perro, y en los rumiantes lo mismo ocurre con la utilización de xilacina. Otros fármacos no tienen efecto en algunas especies o este es escaso (xilacina en el cerdo) o menor (anestésicos inhalatorios en animales de laboratorio comparados con el hombre).

Las características individuales de cada animal pueden aconsejar una modificación de la técnica anestésica. Las razones pueden incluir un carácter agresivo o asustadizo. En estos casos primero debemos considerar si el animal es adecuado para nuestro modelo y si el estrés añadido a que podemos someter el animal lo justifica. En segundo lugar debemos aplicar

la técnica anestésica menos estresante para el animal y que puede implicar una inducción anestésica con el mínimo de manipulación durante el periodo preanestésico. En otros casos el animal puede estar debilitado a causa de la experiencia y normalmente deben reducirse las dosis de anestésicos a utilizar hasta un 80%. En animales críticos se recomienda utilizar inicialmente un 5-10% de la dosis calculada para el mismo animal sano.

Las técnicas de anestesia parenteral no requieren de una inversión previa para poder ser aplicadas. El principal gasto podría derivarse de la obtención de monitores que permitan vigilar a animal durante la anestesia (electrocardiograma, pulsioxímetro, capnógrafo, etc.). La utilización del anestésico inhalatorio éter debe su popularidad a la facilidad de su administración y bajo coste. Es una de las técnicas que deben desaparecer, si es que aún existen, dado su carácter explosivo, irritante de las mucosas, y asociado a una mortalidad elevada sin la experiencia suficiente por parte del investigador. En algunos países está prohibida su utilización.

La implantación de una anestesia inhalatoria con anestésicos halogenados y con su equipo correspondiente -líneas de gases, vaporizadores y circuitos anestésicos- exige una inversión mínima inicial, pero que cualquier laboratorio de investigación puede sufragar fácilmente. Las ventajas de esta técnica superan rápidamente las desventajas económicas, y a medio-largo plazo resultan más económicas. Para la mayoría de los casos, en los que el propio investigador actúa de cirujano y anestésista, pocas técnicas proporcionan la seguridad y sencillez de manejo que proporciona la anestesia inhalatoria con agentes halogenados como el halotano o el isoflurano. Resulta especialmente útil en investigadores sin experiencia previa en investigación animal. Es sin duda la primera técnica anestésica a considerar. Seleccionando adecuadamente el circuito anestésico, podemos realizar una anestesia en cualquier animal de laboratorio, siendo pocas las contraindicaciones (p.e. hipertermia maligna en ciertas razas de cerdo, inestabilidad cardiovascular marcada). Normalmente, como ya hemos indicado, las técnicas aplicadas en un laboratorio normalmente están limitadas a aquellas que se han venido practicando durante años, y el material utilizado es acorde a las mismas. La aplicación de técnicas complejas de anestesia equilibrada requieren de un anestésista para garantizar su efectividad y puede ser la principal limitación en su aplicación.

Una recomendación para toda anestesia, excepto roedores y quizás conejos por su tamaño y especial dificultad, es la implantación de una vía venosa que permita administrar fluidos y fármacos, y de una vía aérea, con un tubo endotraqueal. Estas maniobras rutinarias nos permitirán actuar rápidamente en caso de complicaciones, que fundamentalmente afectan a los sistemas cardiovascular y respiratorio. En el primer caso

podemos administrar 'volumen' de líquidos y fármacos de efecto cardiovascular, y en el segundo realizar una ventilación artificial.

Recuperación anestésica y postoperatorio

En algunos casos, el procedimiento quirúrgico termina con el sacrificio del animal. La selección de la técnica anestésica no debe ser muy diferente en el caso que se desee recuperar al animal, simplemente no importan los efectos indeseables que la técnica anestésica tenga en el período postoperatorio, p.e. una recuperación prolongada (alfa-cloralosa), íleo paralítico en la rata (hidrato de cloral) o efectos tóxicos y carcinogénicos a medio plazo (uretano).

Una recuperación adecuada es aquella que facilite lo antes posible la recuperación de las constantes fisiológicas de un animal y de la forma más suave posible. Una de las complicaciones más frecuentes es la recuperación prolongada, que perpetúa las alteraciones fisiológicas que produce la anestesia y la cirugía. Un ejemplo habitual es la hipotermia. Los roedores pueden perder varios grados de temperatura en pocos minutos pero una recuperación rápida permite igualmente una rápida normalización de la temperatura corporal. Este efecto es menos evidente en animales de mayor tamaño dado que disipan la

temperatura más lentamente. La medida más eficaz es la utilización de ambientes cálidos durante la intervención y la recuperación y, en el caso de animales pequeños, la utilización de fuentes de calor (mantas de agua caliente, eléctricas...) y de incubadoras durante el postoperatorio.

Una recuperación suave reduce las complicaciones que se producen en este período. Los animales deben recuperarse aisladamente unos de otros, y en el caso de los roedores evitar utilizar jaulas muy pequeñas o con viruta, que pueden producir asfixia y la muerte. La mejor forma de facilitar una recuperación sin incidentes es la aplicación de un analgésico postoperatorio. Este debe aplicarse ANTES de la percepción del dolor, es decir, antes de que el animal sea consciente y se recupere de la anestesia. Posteriormente será menos efectivo, o serán necesarias dosis mayores de analgésico. Los analgésicos que pueden utilizarse incluyen antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) -dipirona (nolotil®), flunixin megluminc (finadyne®)...- y opiáceos como la buprenorfina (buprex®) que puede aplicarse a todas las especies de animales de laboratorio. Este fármaco es probablemente el más efectivo en la mayoría de los casos debido a su potente efecto, larga duración (8-12 horas) y menores efectos secundarios que los AINEs.

Bibliografía

Flecknell PA. The relief of pain in laboratory animals. *Lab anim* 18:147-60, 1984

Flecknell PA, Liles JH. The effects of surgical procedures, halothane anaesthesia and nalbuphine on locomotor activity and food and water consumption in rats. *Lab Anim* 25:50-60,1991

Flecknell PA. Prevention and relief of pain and distress. En: *Animals in biomedical research*. Hendriksen CFM, Koeter HBWM, eds. Amsterdam, Elsevier, pp 213-34. 1991

Flecknell PA. Refinement of animal use--assessment and alleviation of pain and distress. *Lab Anim*, 1994 28:222-231

ILAR. Recognition and alleviation of pain and distress in laboratory animals. Washington: National Academy Press, 1992

Liles JH, Flecknell PA. The effects of buprenorphine, nalbuphine and butorphanol alone or following halothane anaesthesia on food and water consumption and locomotor movement in rats. *Lab Anim* 26:180-9, 1992

Liles JH, Flecknell PA. The use of non-steroidal anti-inflammatory drugs for the relief of pain in laboratory rodents and rabbits. *Lab Anim* 26:241-255, 1992

Liles JH, Flecknell PA. The effects of surgical stimulus on the rat and the influence of analgesic treatment. *Br Vet J* 149:515-25, 1993

McDonell WN. Sedation, analgesia, anaesthesia. En: *An Introduction to Experimental Surgery*. De Boer J, Archibald J, Downie HG, Eds. American Elsevier Publishing Company Inc., New York, pp. 153-221, 1975

Morton DB, Griffiths PHM. Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and hypothesis for assessment. *Veterinary Record* 111:431-6, 1985