

# Estudio cronobiológico de la respuesta farmacológica de la combinación ketamina-midazolam en perros

REBUELTO, M.<sup>1</sup>; MONTOYA, L. <sup>1</sup>; AMBROS, L. <sup>1</sup>; WAXMAN, S. <sup>1</sup>; GRUBISSICH, J. <sup>1</sup>

## RESUMEN

La administración de ketamina en combinación con midazolam está recomendada actualmente para la premedicación, inducción y mantenimiento de la anestesia general en la cirugía de los pequeños animales. El objetivo de este estudio fue analizar la respuesta farmacológica de esta combinación administrada en diferentes horarios a perros adultos. La experiencia se realizó en junio del año 2002. Se administró por vía intramuscular (i.m) ketamina CIH (10 mg/kg) y midazolam CIH (0.5 mg/kg) a las 11.00 y 23.00 h (hora local ) a 6 perros Beagle adultos (peso 8.4 - 12.6 kg) propiedad de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA, con un periodo de lavado de 3 semanas. La duración de la respuesta farmacológica (minutos) se registró mediante la observación visual desde la administración de la combinación de la siguiente manera: duración del periodo de latencia, ataxia previa y posterior al decúbito, comienzo, duración y fin del decúbito y duración de la respuesta total. No se determinó la analgesia. Los resultados mostraron que la duración de la ataxia posterior al decúbito (minutos) fue significativamente menor ( $p < 0.05$ ) para el grupo de las 11.00 h (mediana 9.78) en comparación con el de las 23.00 h (mediana 19.7). Los resultados de este estudio muestran que el momento de administración puede afectar parcialmente la respuesta farmacológica de la combinación ketamina y midazolam en perros.

*Palabras clave:* (cronobiología), (ketamina), (midazolam), (perros)

<sup>1</sup>Farmacología. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, Argentina. Chorroarín 280 - (1427) Buenos Aires, Argentina. E-mail: rebuelto@fvvet.uba.ar

Recibido: julio 2003 - Aceptado: octubre 2003

## **Chronobiological study of a ketamine-midazolam combination pharmacological response in dogs**

### **SUMMARY**

Administration of ketamine in combination with midazolam is currently recommended for induction of general anaesthesia in small animal surgery. The aim of this study was to analyse the pharmacological response of a ketamine-midazolam combination injected at different hours in dogs. The experience was conducted in June 2002. Six Beagle adult dogs (8.4 to 12.6 kg) from Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA were administered intramuscularly ketamine CIH (10 mg/kg) and midazolam CIH (0.5 mg/kg) at 11.00 and 23.00 h (local hour), with a washout period of 3 weeks. Duration of pharmacological response (minutes) was recorded by visual assessment starting from the administration of the combination as follows: duration of latency period, pre- and post-recumbency ataxia, beginning, duration and end of recumbency, duration of total pharmacological response. Duration of post-recumbency ataxia (minutes) was significantly lower ( $p < 0.05$ ) for the 11.00 h group (median 9.78) when compared with the 23.00 h group (median 19.7). Results of this study indicate that time of administration may partially affect ketamine-midazolam pharmacological response in dogs.

*Key words:* (chronobiology), (ketamine), (midazolam), (dogs)

### **INTRODUCCIÓN**

La cronofarmacología estudia si el efecto de un tratamiento difiere según la hora del día en que se administre, sea por variaciones temporales en su farmacocinética (cronocinética), farmacodinamia (cronoestesia) o ambas<sup>24</sup>. Estas diferencias tienen su fundamento fisiológico en la existencia de ritmos circadianos (de 24 h) en numerosos procesos biológicos que afectan la disposición y acción de las drogas. Los estudios cronofarmacológicos son de relevancia clínica cuando se refieren a drogas que posee un rango terapéutico estrecho, cuando hay demostradas variaciones tiempo-dependientes en sus efectos, o cuando se trata de una preparación formulada para una única administración diaria<sup>15,25</sup>.

La ketamina es un agente anestésico disociativo utilizado frecuentemente en la

inducción y mantenimiento de la anestesia en caninos, que presenta la ventaja de poder administrarse por diversas vías, incluida la i.m. Sin embargo, debido a la producción de efectos colaterales, como hipertono, ocasionales convulsiones y recuperaciones violentas, se la combina con benzodiazepinas<sup>8-10,13</sup> o agonistas alfa2-adrenérgicos<sup>6,12,30</sup>. El mecanismo de acción reconocido para la ketamina es el antagonismo no competitivo del receptor del N-metil-D-aspartato (NMDA) en el canal de calcio, uniéndose al sitio de fenciclidina (PCP) de dicho receptor<sup>4</sup>. Otros receptores en el sistema nervioso central (SNC), como los transportadores de monoaminas<sup>20</sup>, opioides<sup>28</sup> y GABA<sub>A</sub><sup>31</sup> también podrían ser sitios de acción de la ketamina.

El midazolam es una benzodiazepina con propiedades anticonvulsivantes, sedantes y relajantes musculares centrales. A diferencia del

diazepam, es soluble en agua y compatible con la ketamina asociados en la misma solución<sup>29</sup> y presenta una menor vida media<sup>1,14</sup>. Las benzodiazepinas actúan mediante la unión al sitio benzodiazepina modulador en el receptor GABA<sub>A</sub> que regula alostéricamente el canal de cloro postsináptico, produciendo una modulación positiva, y aumentando la acción inhibitoria de la glicina<sup>29</sup>.

Experiencias previas han demostrado que la acción central producida por la ketamina exhibe variaciones diarias cuando se administra a animales de laboratorio<sup>5,21,23,26</sup>. El objetivo de este estudio fue analizar la duración de la respuesta farmacológica de una combinación de ketamina y midazolam administrada en diferentes horas del día a caninos adultos por vía i.m.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales

En esta experiencia se utilizaron 6 caninos Beagle adultos (2 hembras y 4 machos), sanos al examen clínico, bioquímica sanguínea y hemograma, propiedad de los Caniles de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA; con un peso de 8.4 a 12.6 kg (media  $\pm$  DS: 10.7  $\pm$  1.7 kg). Los animales estaban alimentados y ejercitados en horarios regulares, dos veces por día, con provisión de agua ad libitum, y sujetos a un régimen de luz artificial de 12 h luz:12 h oscuridad. La experiencia se desarrolló en junio 2002, otoño en el hemisferio sur.

### Drogas

Se utilizaron preparaciones comerciales de clorhidrato de ketamina (50 mg de ketamina base/ml, Ketamina 50, Holliday-Scott, Buenos Aires, Argentina) y de clorhidrato de midazolam (2 mg/ml, Midazolam, Holliday-Scott, Buenos Aires, Argentina).

### Diseño de la experiencia

Cada animal, previo ayuno sólido de 12 h, recibió ketamina clorhidrato (10 mg/kg) y midazolam clorhidrato (0.5 mg/kg) mezclados en la misma jeringa, por vía i.m. en la zona lumbar, a las 11.00 y a las 23.00 h (hora local), con un periodo de lavado de 3 semanas entre ambos tratamientos. No se realizó premedicación alguna. Los tratamientos fueron aplicados siempre por el mismo operador. Durante todo el procedimiento se evitó el sufrimiento innecesario de los animales.

### Observación de la respuesta farmacológica

La duración de cada secuencia de la respuesta farmacológica (minutos) fue determinada mediante la observación visual de cada animal desde el momento de la administración del tratamiento, definido como  $t_0$ . Un mismo observador registró la aparición de decúbito y la duración de los siguientes efectos:

- periodo de latencia: desde  $t_0$  hasta el comienzo de la ataxia
- ataxia predecúbito: incoordinación en la marcha antes de la aparición del decúbito
- decúbito, en este periodo se observaron dos fases: fase 1: con inmovilidad y fase 2: con reptación
- ataxia postdecúbito: incoordinación en la marcha desde el final del decúbito hasta la aparición de marcha normal (no  $<$  2 min)
- efecto total: desde  $t_0$  hasta la aparición de marcha normal

No se realizaron pruebas para determinar la presencia de analgesia

### Análisis estadístico

Los datos se expresaron en medianas (percentiles 25 y 75), y fueron analizados mediante el test de Wilcoxon a fin de detectar diferencias debidas al horario de administración

para cada secuencia de la respuesta farmacológica. Las diferencias se consideraron significativas cuando  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

Todos los animales mostraron dolor a la inyección.

El tiempo de latencia no superó los 3 minutos en ninguno de los dos grupos. Todos los animales llegaron al decúbito y se recuperaron sin inconvenientes en un lapso no mayor a los 80 minutos posteriores a la administración del tratamiento. En un animal tratado a las 23.00 h no se observó la fase 2 del decúbito. Se observó la aparición de los efectos colaterales característicos de la ketamina como protrusión de la lengua, movimientos incoordinados de la cabeza y sialorrea en todos los animales independientemente del horario de administración. En ningún caso se observó vocalizaciones, inquietud o convulsiones. La duración de las diferentes fases de la respuesta farmacológica figura en la tabla 1. El análisis estadístico mostró que la duración de la ataxia

posterior al decúbito fue significativamente más prolongada ( $p < 0.05$ ) en el grupo de animales que recibió la combinación ketamina y midazolam a las 23.00 h, fase de reposo de los caninos (figura 1).

## DISCUSIÓN

Se han documentado variaciones temporales en los efectos farmacológicos de distintas drogas con actividad sobre el SNC, como el mejoramiento de la performance cognitiva obtenido con la administración de dextrometanfetamina en el hombre<sup>27</sup>, la duración del sueño inducido por pentobarbital en ratones<sup>19</sup>, y diversos efectos producidos por drogas sicotrópicas<sup>18</sup>.

La inducción a la anestesia en el perro se realiza por medio de anestésicos inyectables, aún en los casos en los cuales el mantenimiento se logra mediante el uso de anestésicos inhalatorios. Numerosos estudios han probado que la combinación de ketamina y midazolam puede constituirse en una opción útil para la inducción de anestesia en caninos<sup>8-10</sup>. El

Tabla 1. Duración (minutos) de la respuesta farmacológica a la administración i.m. a 6 perros Beagle de ketamina (10 mg/kg) y midazolam (0.5 mg/kg) a las 11.00 y 23.00 h. Los datos se expresan en medianas (percentiles 25 y 75)

	Hora de administración	
	11.30 h	23.00 h
Tiempo de latencia	1.7 (1.3-1.8)	1.6 (1.2-2.3)
Ataxia pre-decúbito	2.1 (1.8-2.7)	1.5 (1.3-1.8)
Decúbito fase 1 (inmovilidad)	36.2 (29.2-43.2)	31.4 (30.2-36.5)
Decúbito fase 2 (reptación)	5.3 (3.1-8.2)	7.3*
Ataxia post-decúbito	9.8 (9.3-12.3)	19.7 (16.3-22.0)**
Respuesta total	58.8 (49.6-63.6)	61.1 (58.2-63.4)

\* n=5

\*\*  $p < 0.05$ , test de Wilcoxon

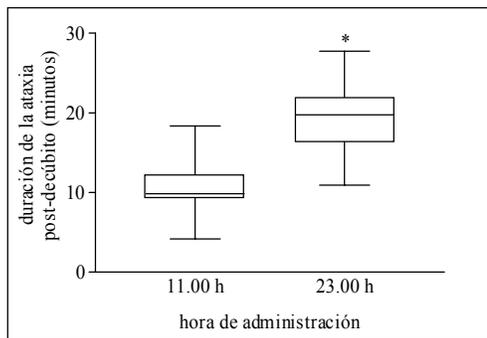


Figura 1. Duración (minutos) de la ataxia post-decúbito luego de la administración i.m. a 6 perros Beagle de ketamina (10 mg/kg) y midazolam (0.5 mg/kg) a las 11.00 y 23.00 h. Los datos se expresan en medianas, las cajas representan los percentiles 25 y 75, los whiskers el rango.

\* medianas significativamente diferentes ( $p < 0.05$ , test de Wilcoxon)

presente estudio fue diseñado con el objetivo de identificar si la hora de administración afecta la duración de la respuesta farmacológica de la combinación ketamina-midazolam en caninos luego de su administración i.m. Nuestros resultados probaron que el tiempo de ataxia posterior al decúbito fue más prolongado cuando se administró la combinación a las 23.00 h (fase de reposo) que cuando se administró a las 11.00 h (fase de actividad), no reflejándose esta diferencia en la duración de la respuesta total. Estos resultados son congruentes con los obtenidos previamente en nuestro laboratorio para la administración de ketamina en ratas Sprague-Dawley<sup>23</sup>. En ese estudio la duración tanto de la ataxia posterior a la pérdida del reflejo postural, indicativo de falta de reacción a estímulos no nociceptivos, como la respuesta total, fue más prolongada en el grupo de ratas que recibió ketamina a las 10.00 y 14.00 h (fase

de reposo) que en el grupo tratado a las 2.00 y 6.00 h (fase de actividad). Debido al diseño de nuestra experiencia, no se puede descartar que también en otros horarios de administración la respuesta farmacológica se vea afectada. Otras experiencias determinaron diferencias dependientes del horario de administración en la dosis letal 50 ( $DL_{50}$ ) de la ketamina en ratones<sup>21</sup> y en la duración de la pérdida del reflejo postural tanto para la ketamina como para el midazolam<sup>26</sup>. Es probable, entonces, que la diferencia hallada en nuestro estudio se deba a uno o ambos compuestos de la asociación.

Las variaciones temporales en la respuesta farmacológica de una droga pueden deberse a diferencias temporales en su farmacocinética, farmacodinamia o ambas. En caninos, ambas drogas de nuestra combinación se eliminan principalmente por biotransformación hepática. El midazolam es degradado rápidamente a dos metabolitos inactivos (1-OH- y 4-OH-midazolam), reacción catalizada por el citocromo P-450 3A<sup>14</sup>. La ketamina inicialmente sufre una N-demetilación que produce un metabolito con mínima actividad farmacológica (metabolito I) que posteriormente se oxida (metabolito II, inactivo). Sin embargo, hay que considerar que la ketamina comercialmente disponible es una mezcla racémica de dos isómeros, *S*(+) y *R*(-) ketamina. Si bien ambos enantiómeros sufren similar biotransformación, la tasa de formación del metabolito I, y por ende, el clearance total, es mayor para la *S*(+) ketamina que para el enantiómero *R*(-); por el contrario, la distribución tisular no es estereoselectiva<sup>7</sup>. Así mismo, el enantiómero *S*(+) exhibe en el canino mayor potencia farmacológica que *R*(-) ketamina<sup>3,17</sup>. Esta complejidad en la farmacocinética y farmacodinamia de la ketamina dificulta notablemente la interpretación de su respuesta farmacológica.

Estudios realizados en ratas sugieren que el metabolismo hepático de la ketamina es fundamental en la terminación del efecto posterior a la pérdida del reflejo postural, mientras que la redistribución es determinante en la duración de la pérdida del reflejo postural<sup>2,16</sup>. Si en caninos el metabolismo hepático sufre variaciones rítmicas diarias, tal como se ha demostrado en ratas<sup>11,22</sup>, coincidiendo el máximo de su función con la fase de actividad del animal; se podría fundamentar fisiológicamente la variación en la duración del periodo de ataxia posterior al decúbito observada en nuestra experiencia por la diferente velocidad en el metabolismo de la ketamina, el midazolam o ambos, correspondiendo a la mayor actividad enzimática (fase de actividad, 11.00 h) la menor duración de este periodo. Sin embargo, no se puede descartar la posibilidad de que existan modificaciones diarias en la sensibilidad del SNC a estas drogas, ya que se han reportado variaciones temporales en los niveles de diferentes receptores a neurotransmisores centrales<sup>32</sup>.

Los resultados de este estudio muestran que el momento de administración puede afectar parcialmente la respuesta farmacológica de la combinación ketamina y midazolam en perros. Si bien las diferencias halladas no justifican una modificación en la posología, se debe considerar que la recuperación de los animales puede ser más prolongada cuando se la administra en la fase de reposo de los mismos.

#### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Laboratorio Holliday-Scott, Buenos Aires, Argentina, el apoyo financiero para la realización de este trabajo, y a Julián Piñeyro la colaboración prestada.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. BROWN, S.A.; JACOBSON, J.D.; HARTSFIELD, S.M. 1993. Pharmacokinetics of midazolam administered concurrently with ketamine after intravenous bolus or infusion in dogs. *J. vet. Pharmacol. Therap* 16: 419-425
2. COHEN, M.L.; TREVOR, A.J. 1974. On the Cerebral Accumulation of Ketamine and the Relationship Between Metabolism of the Drug and Its Pharmacological Effects. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 189:351-358
3. DELEFORGE, J.; DAVOT, J.L.; BOISRAME, B.; DELATOUR, P. 1991. Enantioselectivity in the anesthetic effect of ketamine in dogs. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 14: 418-420
4. DUNCAN, G.E.; MIYAMOTO, S.; LEIPZIG, J.N.; LIEBERMAN, J.A. 1999. Comparison of brain metabolic activity patterns induced by ketamine, MK 801 and amphetamine in rats: support for NMDA receptor involvement in responses to subanesthetic dose of ketamine. *Brain Research* 843: 171-183
5. GIEDT, W.R.; LAKIN, M.L.; WINTERS, W.D.; 1978. Diurnal Response to Ketamine and Gamma-Hidroxi butirato and Its Possible Relationship to Pineal Indoleamines. *Neuropharmacol* 25: 1095-1101
6. HELLEBREKERS, L.J.; SAP, R. 1997. Medetomidine as a premedicant for ketamine, propofol or fentanyl anaesthesia in dogs. *Vet. Rec.* 140:545-548
7. HENTHORN, T.K.; KREJCIE, T.C.; NIEMANN, C.U.; ENDERS-KLEIN, C.; SHANKS, C.A.; AVRAM, M.J. 1999. Ketamine Distribution Described by a Recirculatory Pharmacokinetics Model Is Not Stereoselective. *Anaesthesiology* 91: 1733-1743
8. JACOBSON, J.D.; HARTSFIELD, S.M. 1993. Cardiorespiratory effects of intravenous bolus administration and infusion of ketamine-midazolam in dogs. *Am J Vet Res* 54: 1710-1714

9. JACOBSON, J.D.; HARTSFIEL, S.M. 1993. Cardiorespiratory effects of intravenous bolus administration and infusion of ketamine-midazolam in isoflurane-anesthetized dogs. *Am J Vet Res* 54: 1715-1720
10. JACOBSON, J.D.; MCGRATH, C.J.; SMITH, E.P. 1994. Cardiorespiratory effects of induction and maintenance of anesthesia with ketamine-midazolam combination, with and without prior administration of butorphanol or oxymorphone. *Am J Vet Res* 55: 543-550
11. JORI, A.; DI SALLE, E.; SANTINI, V. 1971. Daily rhythmic variation and liver drug metabolism in rats. *Biochem Pharmacol* 20:2965-2969
12. KO, J.C.H.; FOX, S.M.; MANDSAGER, R.E. 2000. Sedative and cardiorespiratory effects of medetomidine, medetomidine-butorphanol, and medetomidine-ketamine in dogs. *JAVMA* 216: 1578-1583
13. KO, J.C.H.; NICKLIN, C.E.; MELENDAZ, M.; HAMILTON, P.; KUONEN, C.D. 1998. Effects of a microdose of medetomidine on diazepam-ketamine induced anesthesia in dogs. *JAVMA* 213: 215-219
14. KUROHA, M.; AZUMANO, A.; KUZE, Y.; SHIMODA, M.; KOKUE, E. 2002. Effect of multiple dosing of ketoconazole on pharmacokinetics of midazolam, a cytochrome P-450 3A substrate in Beagle dogs. *Drug Metab Dispos* 30:63-68
15. LEMMER, B. 1996. The Clinical Relevance of Chronopharmacology in Therapeutics. *Pharmacol. Res.* 33:107-115
16. MARIETTA, M.P.; WAY, W.L.; CASTAGNOLI, N.; TREVOR, A.J. 1977. On the pharmacology of the ketamine enantiomorphs in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 202:157-165
17. MUIR, W.; HUBBELL, J.A.E. 1988. Cardiopulmonary and anesthetic effects of ketamine and its enantiomers in dogs. *Am J Vet Res* 49: 530-534
18. NAGAYAMA, H. 1999. Influences of Biological Rhythms on the Effects of Psychotropic Drugs. *Psychosomatic Medicine* 61:618-629
19. NELSON, W.; HALBERG, F. 1973. An evaluation of time-dependent changes in susceptibility of mice to pentobarbital injection. *Neuropharmacology*, 12:509-524
20. NISHIMURA, N.; SATO, K. 1999. Ketamine stereoselectively inhibits rat dopamine transporter. *Neuroscience Letters* 274: 131-134
21. PICCO, E.J.; DIAZ DAVID, D.C.; CERRUTTI, J.; BOGGIO, J.C. 2001. Chronotoxicology of ketamine. *Biocell*, 25 (3):10
22. RADZIALOWSKI, F.M.; BOUSQUET, W.F. 1968. Daily rhythmic variation in hepatic drug metabolism in the rat and mouse. *J of Pharmac Exper Therapeut* 163 (1):229-238
23. REBUELTO, M.; AMBROS, L.; MONTOYA, L.; BONAFINE, R. 2002. Treatment-time-dependent difference of ketamine pharmacological response and toxicity in rats. *Chronobiol. Int.* 19:937-945
24. REINBERG, A.E. 1992. Concepts in Chronopharmacology. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 32:51-66
25. RITSCHER, W.A.; FORUSZ, H. 1994. Chronopharmacology, a Review of Drugs Studied. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 16: 57-75
26. SATO, Y.; KOBASHI, E.; WAINAI, T.; MURAYAMA, T.; SEO, N. 2002. Dosing time dependent efficacies of various anesthetics in mice. *Proceedings of the 5<sup>th</sup> Eurosiva Congress*, Niza 5 y 6 de abril 2002. [www.eurosiva.org](http://www.eurosiva.org), consultado el 5 de junio 2003.
27. SHAPPELL, S.A.; KEARNS, G.L.; VALENTINE, J.L.; NWERI, D.F.; DEJOHN, C. 1996. Chronopharmacokinetics and Chronopharmacodynamics of Dextromethamphetamine in Man. *J Clin Pharmacol* 1996, 36:1051-1063
28. SMITH, D.; PEKOE, G.M.; MARTIN, L.L.; COALGATE, B. 1980. The interaction of

- ketamine with the Opiate Receptor. *Life Sci.* 26:789-795
29. THURMAN, J.C.; TRANQUILLI, J.; BENSON, G. 1996. *Lumb & Jones Veterinary Anesthesia*. Williams & Wilkins, USA, 3<sup>rd</sup> edition. p 117-119
30. TOMIZAWA, N.; TOMITA, I.; NAKAMURA, K.; HARA, S. 1997. A comparative study of medetomidine-butorphanol-ketamine and medetomidine-ketamine anaesthesia in dogs. *J. Vet. Med. A* 44: 189-194
31. VELÍSKOVA, J.; VELISEK, L.; MARES, P.; ROKYTA, R. 1990. Ketamine Suppresses Both Bicuculline- and Picrotoxin-Induced Generalized Tonic-Clonic Seizures During Ontogenesis. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 37: 667-674
32. WIRZ-JUSTICE, A. 1987. Circadian rhythms in mammalian neurotransmitter receptors. *Progress in Neurobiology*, 29:219-259